

# LES NANOPARTICULES: QUELS RISQUES EN SEINE ?

Yann SIVRY<sup>1</sup>, Alexandre GELABERT<sup>1</sup>, Roselyne FERRARI<sup>1</sup>, Assia AKROUT<sup>1</sup>,  
Laure CORDIER<sup>1</sup>, Farid JUILLOT<sup>2</sup>, Nicolas MENGUY<sup>2</sup> et Marc F.  
BENEDETTI<sup>1</sup>

1. Univ. Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, IPGP, UMR 7154, CNRS, F-75205 Paris, France

2. Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Univ. Pierre et Marie Curie,  
UMR 7590, CNRS, Paris, France

Tél : 01 83 95 74 55. Fax : 01 57 27 84 71. Courriel : [sivry@ipgp.fr](mailto:sivry@ipgp.fr)

## Résumé

*L'obtention de nanoparticules (NPs) manufacturées et les propriétés physico-chimiques spécifiques qu'elles présentent autorisent aujourd'hui des applications de plus en plus nombreuses et innovantes. La quantité de nanoparticules manufacturées mises sur le marché est en constante augmentation et elles sont aujourd'hui présentes dans de nombreux produits de consommation courante. Cela alimente un débat croissant sur les coûts environnementaux et sociétaux qui pourraient dépasser les bénéfices escomptés par l'utilisation des nanotechnologies en général et des nanomatériaux ou nanoparticules (i.e. taille < 100 nm) en particulier. Elles sont devenues un enjeu majeur de santé publique du point de vue de la toxicité potentielle qu'elles pourraient engendrer dans les écosystèmes. Les nanoparticules peuvent en effet présenter un risque écotoxicologique (dispersion et dégradation dans l'environnement) et un risque en termes de santé humaine (exposition au poste de travail par exemple). Il est donc nécessaire d'évaluer la persistance, le devenir et l'impact de ces nouveaux polluants sur les écosystèmes et sur la qualité des ressources naturelles (eaux, cultures, etc...). Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était de mieux cerner l'état physique et chimique des NPs dans des concentrations représentatives des niveaux de toxicité observés et dans des conditions proches de celles des milieux naturels. Elle s'est focalisée sur l'eau de Seine, représentative des eaux naturelles de surface qui sont un des vecteurs principaux de la dispersion de ces NPs manufacturées. Les NPs étudiées ici sont produites en grande quantité et largement utilisées dans différents domaines industriels : il s'agit de NPs d'oxydes de zinc (ZnO) et de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>). L'analyse des NPs de ZnO par XPS a mis en évidence l'existence d'un cœur de ZnO et d'un coquille de Zn(OH)<sub>2</sub> en surface. Parallèlement, des NPs enrobées ont été étudiées et caractérisées, afin de mettre en évidence le rôle de l'enrobage organique sur la solubilité des NPs. Les expériences de mesures de solubilité des nanoparticules manufacturées en milieu naturel ont été réalisées par utilisation combinée des techniques de DMT et d'UF, associée à des calculs thermodynamiques. Il s'avère que la forme nanoparticulaire du TiO<sub>2</sub> n'est pas davantage soluble que ses homologues microparticulaire ou macroparticulaire. A l'inverse, une fraction non négligeable des nanoparticules d'oxydes de zinc est rapidement dissoute dans l'eau de Seine. Puis les NPs sont "piégées" dans des phases secondaires carbonatées, ce qui peut signifier leur isolement par rapport au milieu et donc l'arrêt des réactions impliquant les NPs, soit une forme de passivation des nanoparticules. Le comportement des NPs dans le milieu est donc en grande partie contrôlé par la couche directement à leur surface (Gélabert et al., 2014; Sivry et al., 2014) : la couche d'hydroxydes de zinc contrôle le K<sub>s</sub> apparent, l'enrobage organique augmente la vitesse et le taux de dissolution des NPs et, enfin, la formation d'une gangue carbonatée emprisonne les NPs et provoque potentiellement leur passivation.*

**Mots-Clés :** contaminants ; eaux de surface ; cycles biogéochimiques ; transformations ; nanoparticules.

## 1. Introduction

L'obtention de nanoparticules (NPs) fonctionnalisées et les propriétés physico-chimiques spécifiques qu'elles présentent autorise aujourd'hui des applications de laboratoire de plus en plus nombreuses et innovantes : en imagerie médicale en tant qu'agents de contraste, en médecine comme vecteurs de médicaments, en cosmétique dans les crèmes solaires (NPs de  $\text{TiO}_2$ ) ainsi que dans le domaine des énergies renouvelables avec une exploitation de leurs propriétés optiques au niveau des panneaux solaires (NPs de  $\text{ZnO}$ ). La quantité de nanoparticules manufacturées mises sur le marché est en constante augmentation et elles sont aujourd'hui présentes dans de nombreux produits de consommation courante (pneumatiques, crèmes solaires ( $\text{TiO}_2$ ), verres autonettoyants..., Figure 1).

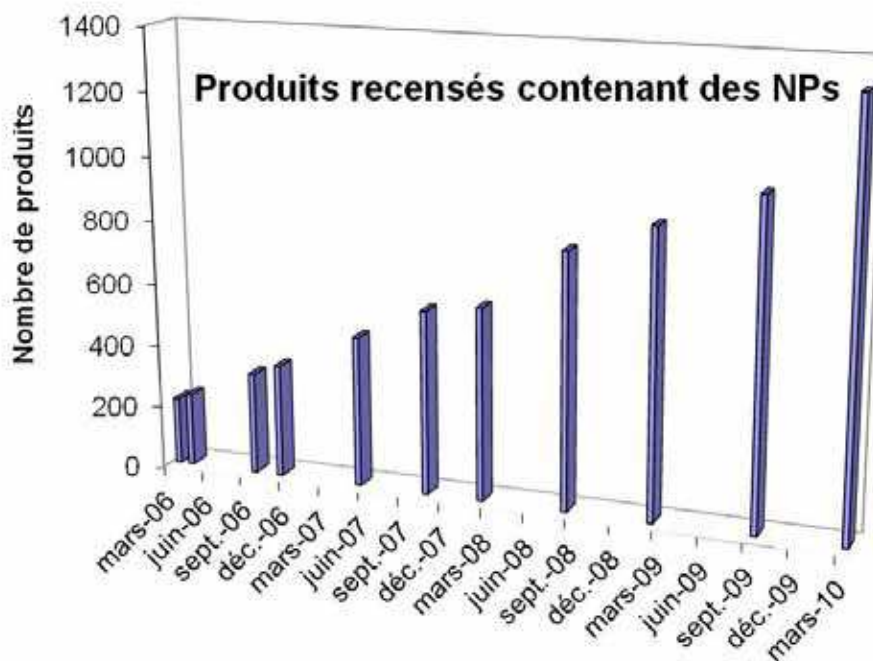


Figure 1: Évolution des produits du marché recensés contenant des nanoparticules depuis 4 ans (source : <http://nanotechproject.org/44>).

Cette perspective d'applications de type industriel manipulant des masses d'objets très importantes déclenche de nombreuses craintes de la part du public, alimentant un débat croissant sur les coûts environnementaux et sociétaux qui pourraient dépasser les bénéfices escomptés par l'utilisation des nanotechnologies en général et des nanomatériaux ou nanoparticules (i.e. taille < 100 nm) en particulier. Elles sont devenues un enjeu majeur de santé publique du point de vue de la toxicité qu'elles pourraient engendrer dans les écosystèmes et doivent être intégrées à l'application de la Directive Cadre européenne sur l'Eau (DCE). Les nanoparticules peuvent en effet présenter un risque écotoxicologique (dispersion et dégradation dans l'environnement) et un risque en termes de santé humaine (exposition au poste de travail par exemple), notamment du fait de leur grande surface spécifique.

Des estimations récentes font état d'une augmentation de la production mondiale de nanoparticules pouvant atteindre 58000 tonnes par an entre 2011 et 2020 (UNEP, 2007). Il apparaît donc inévitable qu'une proportion significative de NPs manufacturées soient

disséminées dans les sols et les eaux (Boxall *et al.*, 2007). Les nanoparticules peuvent potentiellement se retrouver dans des eaux de surface suite au ruissellement et au lessivage de sols contaminés, par le dépôt de particules transportées par voie atmosphérique ou suite à un déversement accidentel. Par l'intermédiaire du cycle naturel de l'eau, le transport des nanoparticules et des polluants potentiels adsorbés à leur surface est facilité (Chen *et al.*, 2011). Plusieurs études ont récemment estimée les quantités de NPs libérées dans l'environnement (Mueller & Nowack, 2008; Gottschalk *et al.*, 2009; Piccinno *et al.*, 2012; Mueller *et al.*, 2013), révélant l'existence de concentrations potentiellement problématiques pour certaines NPs (de 21 ng L<sup>-1</sup> à 4 µg L<sup>-1</sup> de NPs de TiO<sub>2</sub> dans les eaux de surface et les boues de stations d'épuration, respectivement). De plus, ces études ont clairement mis en avant le rôle des sols et des sédiments comme puits de NPs tandis que les eaux naturelles jouent le rôle de vecteur de diffusion (Gottschalk *et al.*, 2009; Lowry & Casman, 2009) (Figure 2).

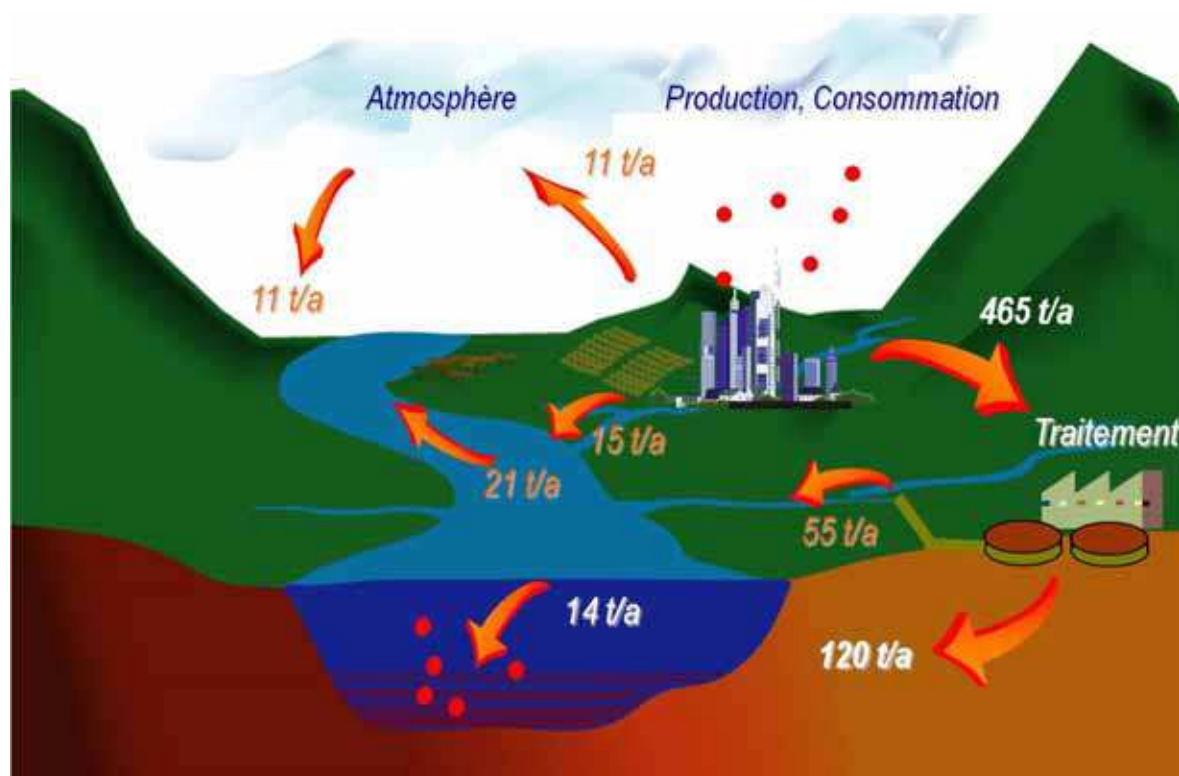


Figure 2 : Estimation des flux de nanoparticules d'oxydes de zinc à la surface terrestre, à l'échelle des USA, adapté d'après Gottschalk *et al.* (2009).

Pour éviter de renouveler les erreurs passées commises avec l'utilisation de composés chimiques toxiques persistants comme le DDT et de composés naturels comme l'amiante, des études préliminaires sur le transport, la transformation et la distribution dans l'environnement des nanoparticules sont nécessaires et permettraient de minimiser les coûts potentiels de perturbations environnementales majeures. Cependant, peu d'études ont abordé les impacts environnementaux dus à l'exposition aux nanoparticules métalliques disséminées dans l'environnement et aucune réglementation claire n'existe pour quantifier et limiter leurs effets.

Par conséquent, il est aujourd'hui nécessaire d'évaluer la persistance, le devenir et l'impact de ces nouveaux polluants sur les écosystèmes et sur la qualité des ressources naturelles (eaux, cultures, etc...), en particulier dans l'eau et le sol.

Les NPs minérales sont, contrairement aux nano-objets constitués uniquement de carbone (Nano-tube de C, etc.), susceptibles de se modifier en milieu aqueux ou dans les sols comme le montrent les études sur des analogues naturels comme les oxydes de fer (Allard *et al.*, 2004). Partiellement composées d'atomes métalliques, les NPs minérales se révèlent potentiellement dangereuses par les doses létales associées à leurs métaux constitutifs, très basses pour la plupart des organismes vivants. De plus, leur très petite taille (1 à 100 nm), les rend susceptibles de traverser les barrières physiologiques (parois cellulaires, muqueuses intestinales) et/ou d'interagir avec des objets biologiques de taille comparable (ADN, protéines). Les travaux de recherche basés sur des tests *in vivo* et *in vitro* ont mis en évidence une toxicité des nanoparticules pour les cellules vivantes (Thill *et al.*, 2006; Xia, 2008; Auffan *et al.*, 2009) ainsi qu'une accumulation des NPs sur les surfaces de bactéries Gram+ (Gu, 2003a) et Gram- (Gu, 2003b). Des tests *in vitro* de cytotoxicité avec des nanoparticules de type oxyde de zinc (ZnO) ont montré des effets similaires à ceux obtenus avec de l'amiante ou des oxydes de silicium (Brunner, 2006). Ces auteurs pensent que ces effets toxiques des nanoparticules de ZnO sont dus à la présence en solution d'ions  $Zn^{2+}$  résultant de la dissolution des nanoparticules initialement introduites. Un raisonnement similaire est proposé pour la toxicité des nanoparticules de type Cd/Se (Aryal, 2006) sans que soit réellement connue la concentration en ion  $Cd^{2+}$  en solution.

Cependant, la plupart des études présentées dans la littérature montrent encore des résultats contradictoires, ou sont effectuées dans des conditions peu réalistes du point de vue des conditions environnementales ou biologiques (Figure 3).

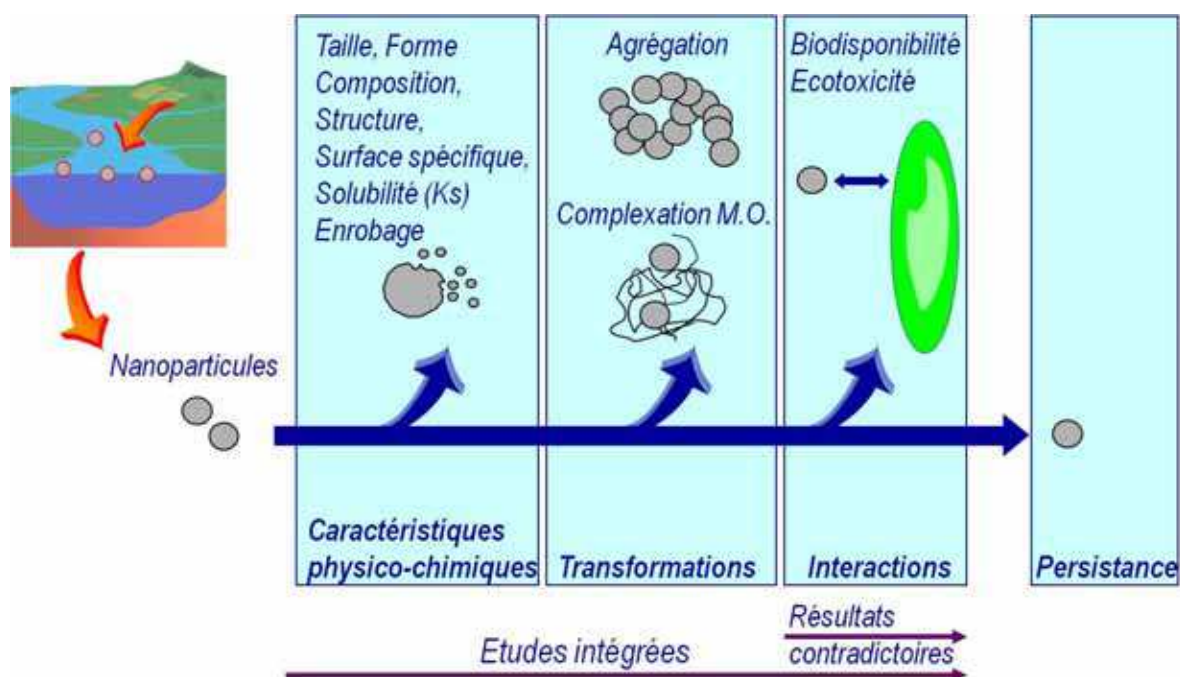


Figure 3 : Devenir des nanoparticules dans le milieu naturel. Les études doivent intégrer à la fois leur caractérisation physico-chimique et leurs transformations potentielles afin de comprendre leurs interactions avec les micro-organismes.

Au cours de ces travaux, il est apparu très difficile de prédire le comportement et la réactivité des NPs au contact d'organismes vivants ainsi que leur devenir dans les systèmes naturels, puisque ces nanomatériaux présentent des caractéristiques physico-chimiques propres, très différentes de celles des matériaux micrométriques correspondants (Waychunas & Zhang, 2008). Ces propriétés physico-chimiques de surface constituent un facteur majeur pour l'évaluation de leur niveau de toxicité (Oberdorster *et al.*, 2005) puisqu'elles contrôlent les

toutes premières étapes de l'interaction entre les surfaces biologiques et les particules elles-mêmes. Dans les environnements naturels et les milieux de culture cellulaires, ces propriétés de surface des NPs déterminent en effet leur stabilité (Chanteau, 2009), influencent leur solubilité (Sivry *et al.*, 2009; Gélabert *et al.*, 2014; Sivry *et al.*, 2014) et leur état d'agrégation (Fresnais, 2008). Elles peuvent être responsables de changements de spéciation modifiant leur réactivité chimique vis-à-vis des organismes vivants (Planchon *et al.*, 2013). Il apparaît donc essentiel de déterminer les caractéristiques physico-chimiques des NPs en parallèle des tests de toxicité.

### Objectifs

L'objectif principal de cette étude était de mieux cerner l'état physique (agrégation) et chimique (solubilité, réactivité de surface) des nanoparticules (NPs) dans des conditions proches de celles rencontrées dans les milieux naturels au travers d'une étude pluridisciplinaire. Elle s'est focalisée sur les eaux de surface (ici l'eau de Seine) qui sont le vecteur principal de la dispersion de ces nanoparticules manufacturées.

Cet objectif général a été atteint au travers :

(i) de la caractérisation des nanoparticules et de leur état de surface. Au préalable de l'étude du comportement des nanoparticules (NPs) en milieu naturel, qu'il s'agisse de transformations dans le milieu ou d'interaction avec les phases minérales, organiques et microbiologiques, il est indispensable de parfaitement caractériser le nano-objet étudié.

(ii) de la détermination de leur solubilité dans les eaux naturelles. La dissolution est invoquée pour expliquer les effets des NPs (voir état de l'art) sans que celle-ci ne soit réellement mesurée. Nous avons donc tenté de déterminer cette valeur pour les différentes NPs à la fois de façon cinétique et à l'équilibre, dans le cas particulier d'une eau de rivière drainant un bassin versant anthropisé et donc potentiellement affecté par la dissémination des nanoparticules manufacturées (ici l'eau de la rivière Seine). Ces nouvelles données sont comparées aux solubilités connues pour les micro-particules pour mieux comprendre un possible « effet nanoparticule ». Ces mesures ont été réalisées dans des conditions qui étaient représentatives des conditions observées de toxicité et d'écotoxicité.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1 Choix des nanoparticules et du milieu

Nous nous sommes intéressés aux NPs qui sont produites en grande quantité en raison de leurs propriétés. Nous avons donc choisi de travailler avec des NPs utilisées industriellement. Le premier système sélectionné concerne des NPs d'oxyde de Zn (ZnO) qui sont déjà largement utilisées dans le domaine de la cosmétologie. Nous testons en parallèle un autre oxyde métallique, le TiO<sub>2</sub> qui possède des propriétés proches mais qui, d'après les données thermodynamiques des formes micro ou macroscopiques possède une solubilité plus faible que le ZnO. Nous avons également sélectionné ces mêmes NPs avec un traitement de surface (fonctionnalisation, enrobage dans des surfactants) généralement utilisé pour améliorer leur stabilité en solution.

La comparaison entre ces deux NPs doit permettre de proposer des stratégies d'utilisation différentes en fonction de leurs propriétés suivant les conditions physicochimique du milieu de dispersion, voire une réglementation différente pour leur stockage ou utilisation.

Notre choix s'est porté sur des nanoparticules fabriquées et distribuées aux industriels du domaine de la cosmétique par l'entreprise Kobo Products®. Ces NPs correspondent aux

critères préalablement établis (Tableau 1). Elles nous ont été gracieusement fournies par l'entreprise Kobo Products®.

*Tableau 1 : Identification et caractéristiques des nanoparticules neuves, d'après le constructeur.*

	Poudres		Dispersion
	ZnO	TiO <sub>2</sub>	ZnO
ID	X1	X2	X3
INCI name	Zinc oxide	Titanium dioxide	C12-15 Alkyl Benzoate (And) Zinc Oxide Kobo Products (And) Polyhydroxystearic Acid (And) Triethoxycaprylylsilane
Surfactant	n.r.	n.r.	Esters
Primary Particle Size	20 nm	15 nm	20 nm
Particle Size in Flocs	n.r.	n.r.	130 nm
Type	n.r.	n.r.	n.r.

n.r. : non renseigné

	X3
Coating	Triethoxycaprylylsilane
NPs	47wt% ZnO
C12-15 Alkyl Benzoate	47wt%
Polyhydroxystearic Acid	3wt%
Viscosity (cPs)	100

Le choix de l'étude d'une eau provenant de la Seine est justifié par sa représentativité des eaux douces superficielles. Par ailleurs, l'eau de la Seine est étudiée par l'Équipe Géochimie des Eaux de l'IPGP depuis de nombreuses années dans le cadre du programme PIREN Seine et est donc parfaitement paramétrée (Tableau 2). Le bassin versant de la Seine étant fortement anthropisé, ce choix est relevant vis-à-vis de la possibilité d'une contamination accidentelle en nanoparticules. L'échantillon a été prélevé au niveau de l'Université Paris Diderot (Quai Panhard et Levassor, Paris, France), puis filtré en laboratoire à 0.22 µm.

*Tableau 2 : Composition chimique de l'eau de Seine donnée en µmol/L.*

x10 <sup>-3</sup> mol/L	Na <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SiO <sub>2</sub>	pH	DOC (mg/L)
Eau de Seine	0,429	0,189	2,366	0,077	0,617	3,807	0,334	0,382	0,06	8,05	2,45



## **2.2 Caractérisation des phases solides**

Les nanoparticules neuves ont été caractérisées par différentes techniques microphysiques : la Diffraction des Rayons X (DRX) pour déterminer la composition cristallographique des particules, la Spectroscopie de Photoélectrons X (XPS), pour réaliser une analyse fine de surface des NPs, la méthode Brunauer, Emmett et Teller (BET) pour déterminer la surface spécifique des NPs, la Microscopie Électronique en Balayage (MEB) et en Transmission (MET) afin de vérifier la taille des particules ainsi que leur composition (MET-EDXS) et la Diffraction Dynamique de la Lumière (ou Dynamic Light Scattering, DLS) afin de connaître l'état d'agrégation des particules dans les milieux réactionnels.

### **2.2.1 Diffraction des Rayons X (DRX)**

Les NPs neuves ont été analysées par Diffraction des Rayons X pour connaître leur nature cristalline et mesurer leur taille moyenne.

Les échantillons ont été déposés sur une plaque de silice et placés désorientés dans l'appareil (Panalytical X'Pert) équipé d'un détecteur multicanal (X'celerator) et d'une anticathode de cobalt. A partir du diagramme de diffraction (nombre de photons diffractés en fonction de la position angulaire du détecteur  $2\theta$ ) il est possible de remonter à la nature cristallographique des poudres analysées et à leur microstructure (taille des cristallites, cristallinité). L'identification de phase a été réalisée grâce au logiciel Highscore et de la base de données du "Joint Committee on Powder Diffraction Standards" (ou "JCPDS"), tandis que la taille des cristallites est calculée avec le logiciel Profit.

### **2.2.2 Spectroscopie de Photoélectrons X (XPS)**

L'XPS a été utilisée pour étudier la composition chimique de surface des échantillons sur une profondeur de 10 nm maximum. Les échantillons ont été déposés sur un ruban adhésif en carbone C-C puis mis à dégazer une nuit afin d'éliminer l'humidité et le carbone atmosphérique. Le lendemain les échantillons ont été analysés avec un spectroscope de photoélectron X (ESCALAB 250, Thermo Electron, Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris (ENSCP)) sous une pression de  $10^{-9}$  mbar.

### **2.2.3 Méthode Brunauer, Emmett et Teller (BET)**

Les surfaces spécifiques des nanoparticules ont été mesurées par la méthode d'adsorption de gaz inerte ( $N_2$ ) ou méthode dites BET. La surface spécifique représente la quantité de surface totale accessible par unité de masse de produit. Elle est constituée de toute la surface externe de chaque particule ainsi que de leurs pores ouverts. Ainsi plus les particules seront petites et poreuses, plus leur surface spécifique sera élevée. Cette technique est basée sur la théorie de l'adsorption de l'azote à basse température développée par trois scientifiques Brunauer, Emmett et Teller (BET). Cette théorie permet de calculer à partir du volume de gaz adsorbé et au moyen de l'équation BET, le volume d'azote adsorbé en monocouche sur la surface du solide.

### **2.2.4 Microscopie Électronique à Transmission (MET)**

La taille et la forme des NPs ont été déterminées par Microscopie Electronique en Transmission (mesure du faisceau d'électron transmis au travers de l'échantillon). Le microscope utilisé est de marque Jeol 2100F fonctionnant à 200kV, constitué d'une pointe FEG (Field Emission Gun ou canon à émission de champs) équipé d'un système d'analyse haute résolution (UHR), d'un Filtre d'Imagerie Gatan (GIF) et d'une caméra 4k. Ce microscope possède également un détecteur XEDS (Xrays Energie Dispersive Spectroscopie) de type Si/Li permettant d'obtenir un spectre des rayons X caractéristique des éléments

(atomes) constituant l'échantillon et donc d'effectuer des cartographies chimiques des particules.

Les particules neuves ont été dispersées dans l'éthanol par sonication, les échantillons ont ensuite été soniqués pendant 30 min et une goutte de chacun a alors été déposée sur une grille de cuivre de 3 mm de diamètre.

### **2.2.5 Diffraction Dynamique de la Lumière (DLS)**

Les NPs ZnO neuves ont été analysées par DLS afin de déterminer leur taille moyenne ainsi que celle des agrégats formés.

Les NPs ont été dispersées dans une solution électrolytique de  $\text{CaNO}_3$  à 2.5 mM puis injectées dans une cuve. L'appareil utilisé est le Zetasizer HS 3000 Malvern. Le logiciel control Software du Zetasizer de Malvern permet d'estimer le pourcentage en volume et le pourcentage en nombre de particules. Cette double détermination est importante. En effet, les grosses particules donnent une intensité élevée de signaux recueillis même si elles ne représentent qu'un faible volume (faible nombre de particules en suspension), et inversement pour les petites particules. Même en grand nombre, elles donnent un signal de faible intensité à cause de leur faible pouvoir diffusant.

### **2.2.6 Spectroscopie Infra Rouge (IR)**

La spectroscopie Infra Rouge (IR) permet d'obtenir des informations sur la nature chimique des espèces organiques fixées (enrobages...) sur les NPs.

Les échantillons ont été dispersés, broyés dans du KBr et mis sous forme de pastille, en leur appliquant une pression de six tonnes à l'aide d'une presse manuelle Beckman. Ces pastilles ont ensuite été analysées en transmission à température ambiante à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier de type Bruker Equinox 55, avec une résolution de  $4\text{ cm}^{-1}$  et un nombre d'acquisition de 64 dans un domaine de nombre d'onde allant de  $400\text{ cm}^{-1}$  à  $4000\text{ cm}^{-1}$ . Le spectre d'absorbance en fonction de la longueur d'onde a été obtenu à l'aide du logiciel Omnic.

### **2.2.7 Cas particulier des NPs enrobées : étape préliminaire (extraction par solvant)**

Les nanoparticules enrobées sont fournies dans un solvant apolaire (ester, Tableau 1) qui complique leur caractérisation, car la nature de cet ester n'est pas précisée par le fournisseur et il est non miscible dans l'eau. De plus, sa température d'ébullition est  $>140^\circ\text{C}$ . Les analyses granulométriques par DLS donnent donc des résultats non reproductibles, tandis que le dépôt sur grilles pour le MET est impossible. Une première phase d'extraction par solvant des nanoparticules et de caractérisation de l'enrobage a donc été nécessaire, préalablement à toute caractérisation micro-physique.

L'extraction par solvant réalisée est communément appelée un test de Folch, adapté ici d'après (Folch *et al.*, 1957). Le principe de celui-ci consiste en l'isolation et la purification des substances lipidiques de cerveaux d'animaux en biologie animale. Ce test est composé de deux étapes successives. Les lipides sont extraits par homogénéisation des tissus à l'aide de deux solvants : chloroforme – méthanol en proportion 2 pour 1 respectivement. Puis l'homogénat est filtré et le filtrat contenant les tissus lipidiques et les substances non lipidiques, sont mis en contact avec au moins cinq fois son volume en eau afin de retirer les substances non-lipidiques.

Ici, la méthode de Folch *et al.* a été modifiée afin d'extraire les nanoparticules ZnO enrobées du solvant (ester) sans toutefois modifier l'enrobage, afin d'obtenir les NPs toujours enrobées



## LES NANOPARTICULES: QUELS RISQUES EN SEINE ?

mais extraites du solvant et pouvoir ainsi les caractériser. Pour cela, seule la première partie du test de Folch a été utilisé avec une légère modification : 0,5 ml de NPs ZnO enrobées neuves ont été successivement rajoutés à une série de 10 éprouvettes contenant un ratio chloroforme-méthanol variable (de 9 : 1 à 0 : 10, Figure 4). Le ratio « idéal » est celui permettant d'extraire l'ester sans détruire l'enrobage.

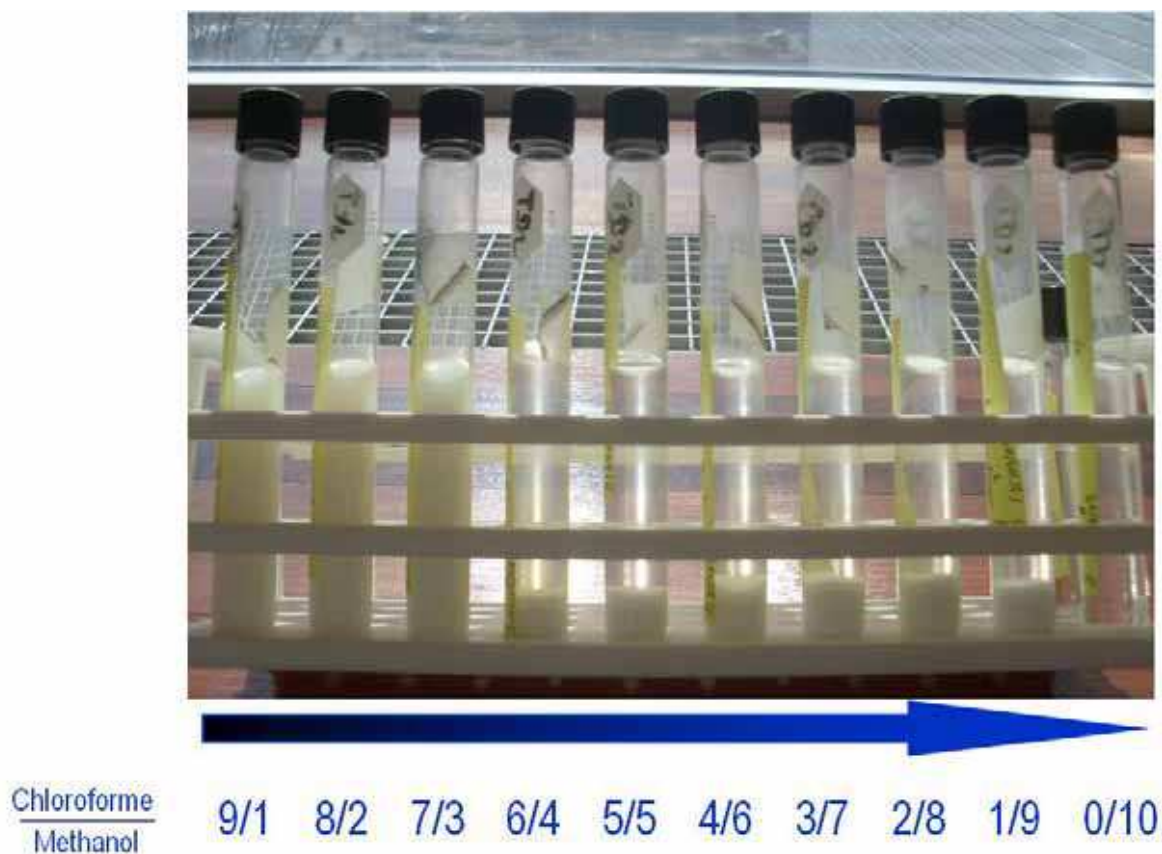


Figure 4 : Photo des 10 éprouvettes après extraction par solvant des nanoparticules d'oxyde de zinc enrobées (test adapté d'après Folch et al., 1957).

Nous obtenons après décantation 2 types d'échantillons : ceux avec un ratio chloroforme/méthanol = 9/1 ; 8/2 et 7/3, qui présentent toujours une seule phase et qui sont donc éliminés et les 7 autres composés d'un culot (suspension blanche épaisse se transformant en une poudre en fonction du ratio chloroforme - méthanol utilisé) et d'un surnageant homogène incolore (contenant les solvants chloroforme + ester, ainsi qu'une fraction variable des composés organiques constitutifs de l'enrobage). Après séparation des deux phases et lyophilisation des culots, ceux-ci ont été analysés par Spectroscopie Infra-Rouge (IR, Figure 5) afin de déterminer les fonctions organiques qu'ils contiennent.

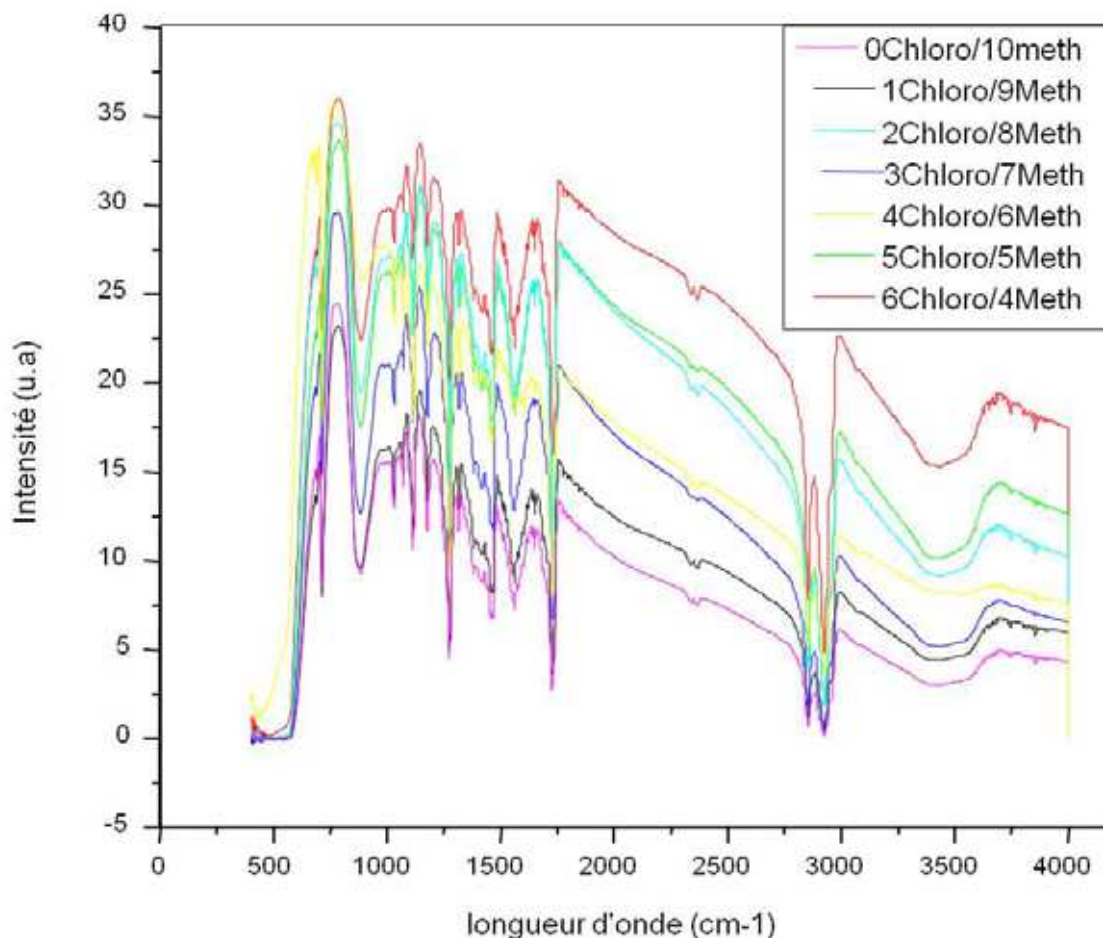


Figure 5 : Spectre IR des 7 culots extraits lors du test de Folch modifié (Folch et al., 1957).

Ces spectres ont tous la même allure, les pics se superposent mais possèdent des intensités différentes. Cela signifie que les poudres obtenues contiennent toutes les mêmes composés organiques mais en proportion différentes.

Selon la composition des nanoparticules d'oxyde de zinc enrobées neuves, la molécule faisant fonction d'enrobage est le triéthoxycaprylsilane car un siloxane présente de grandes affinités avec les oxydes. L'analyse de ces spectres s'est donc principalement porté sur « l'évolution » d'intensité de la bande de vibration SiO correspondant à la présence ou non d'enrobage. L'interprétation qui peut en être faite est que plus l'intensité du pic SiO est grande, plus il y a de SiO et donc d'enrobage. L'analyse a été principalement axée entre 1100 et 1200  $\text{cm}^{-1}$  ce qui correspond à la bande de vibration de SiO. Une diminution de l'intensité de la bande de vibration SiO en fonction de la diminution du ratio chloroforme-méthanol est constatée. Cette diminution d'intensité correspond au décrochage des molécules SiO des nanoparticules d'oxyde de zinc c'est à dire à la disparition de l'enrobage et ce en fonction de l'augmentation du volume de méthanol (dans les éprouvettes). Donc l'augmentation du volume de méthanol ajouté entraîne la destruction de l'enrobage.

Le ratio chloroforme/méthanol permettant d'extraire les NPs de l'ester tout en conservant le maximum d'enrobage est le ratio 6/4. Néanmoins, le temps de décantation nécessaire étant particulièrement long dans ce cas-là, ce sont les nanoparticules obtenues avec le ratio chloroforme/méthanol = 5/5 qui ont été choisi pour la suite de l'étude. Cette extraction par solvant permet d'obtenir une poudre de nanoparticules d'oxyde de zinc enrobées neuves caractérisables.

## 2.3 Mesure de la solubilité

L'objectif de ces manipulations est ici de mesurer l'ion métallique libéré lors d'une éventuelle dissolution de la nanoparticule minérale. Elles consistent donc à mettre en interaction ces NPs avec un le milieu, puis à mesurer la concentration en métal constitutif des nanoparticules minérales dans la fraction dissoute. Pour cela, différentes techniques peuvent être mises en œuvre : les électrodes sélectives (ISE), les Membranes échangeuses de cations utilisant l'effet Donnan (Donnan Membrane Technique, DMT, Figure 6) et enfin les techniques séparatrices sur membrane, afin de dissocier les NPs de la phase dissoute. Chacune de ces méthodes présente des avantages et des limitations : les ISE ont des limites de détection variables selon les milieux, les DMT nécessitent un réservoir "Donneur" et un temps d'équilibration suffisamment grands, tandis que les techniques d'ultrafiltration peuvent induire des biais non négligeables dans la concentration des métaux dans le filtrat (Dupré *et al.*, 1999). C'est pourquoi nous avons choisi pour cette étude d'utiliser de façon combinée la DMT et l'Ultrafiltration : la comparaison des deux méthodes, appuyée d'une modélisation thermodynamique devant permettre de valider la technique d'UF, plus facile à mettre en œuvre pour l'étude des NPs.

### 2.3.1 Technique de la Membrane à effet Donnan (DMT)

La technique utilisant l'effet Donnan dans la Membrane échangeuse d'ion (DMT) a été développée par Fitch & Helmke, (1989). La DMT a le grand avantage de permettre la mesure des ions libres en solution sans perturber l'équilibre dans la solution à étudier, contrairement à d'autres techniques comme les DGT (Diffusive Gradients in Thin films). Le schéma de la DMT est représenté dans la Figure 6. La DMT consiste donc en une cellule séparée en deux compartiments par une membrane. La membrane est composée d'une matrice de polystyrène et de divinylbenzène avec des groupements sulfoniques ( $\text{HSO}_2\text{OH}$ ) à sa surface. Les groupements sulfoniques sont complètement déprotonés pour un pH supérieur à 2. La membrane sera chargée négativement dans nos conditions expérimentales et ne laissera donc passer que les ions positifs. Elle est d'une épaisseur de 0,16 mm et la surface en contact avec la solution est de  $7 \text{ cm}^2$ . Dans le compartiment donneur, est placée la solution dont la spéciation est à mesurer et dans le compartiment accepteur, uniquement une solution électrolytique composée des mêmes ions majeurs et ayant la même force ionique que la solution étudiée. La membrane permettant le passage des cations, un équilibre cationique de Donnan va s'établir entre le côté donneur et le côté accepteur.

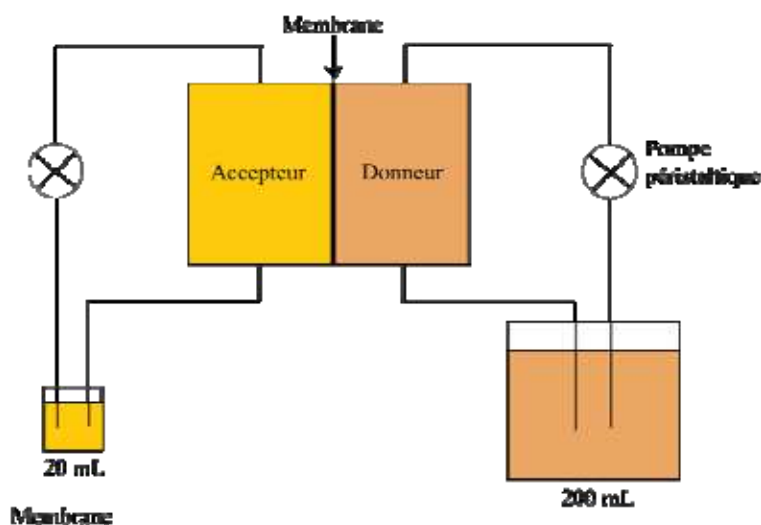


Figure 6 : Schéma de principe de la Membrane de Donnan (DM), (Jouvin *et al.*, 2009).

Le volume est très différent pour les deux compartiments, 20 mL du côté accepteur et 200 mL du côté donneur. Cette différence est nécessaire afin d'assurer que l'équilibre de Donnan entre côté donneur et côté accepteur n'affectera pas la spéciation du côté donneur.

L'évolution de la concentration des éléments dans le côté accepteur au cours du temps dépend de la charge des ions et de la force ionique de la solution. Un équilibre s'établira autour de 2 jours pour la plupart des métaux divalents (Temminghoff *et al.*, 2000; Cances *et al.*, 2003). Dans le cas du zinc, l'obtention de l'équilibre entre côtés accepteur et donneur est obtenu après 3 jours, comme démontré par l'étude de Jouvin *et al.*, (2009).

### 2.3.2 Ultrafiltration (UF)

Cette technique permet, via le seuil de coupure très fin de la membrane utilisée (1000 Da, soit une taille de plus ou moins 2 nm pour une géométrie sphérique; 1 dalton = 1g/mol), de mesurer dans le filtrat l'ensemble des espèces métalliques en phase dissoute, contrairement à la Membrane de Donnan qui donne accès uniquement à la concentration en ion libre (i.e.  $Zn^{2+}$ ). Ces deux résultats peuvent ensuite être comparés à ceux obtenus par l'utilisation des modèles thermodynamiques (Figure 7).

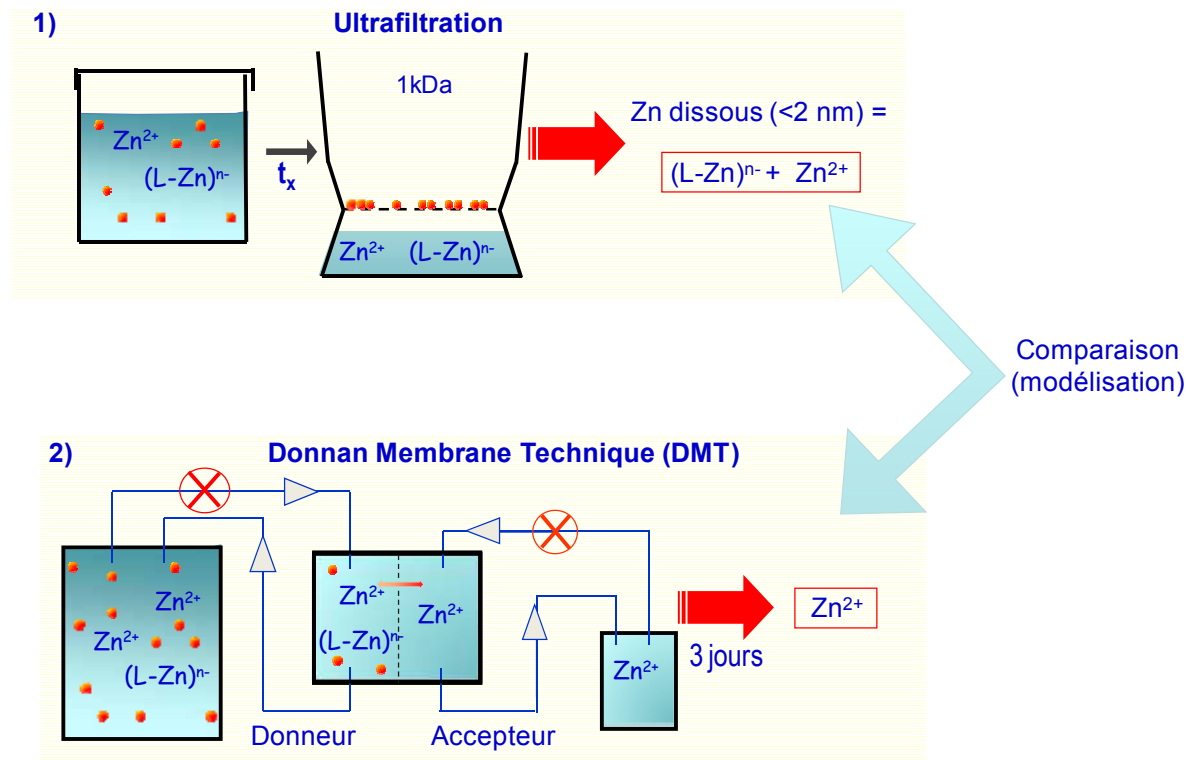


Figure 7 : Schéma de principe de la méthodologie envisagée, couplant les techniques d'ultrafiltration et de Membrane échangeuse de cation pour la mesure des métaux dissous.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1 Caractérisation des NPs ZnO non enrobées (produit X1)

L'analyse DRX nous a permis de vérifier la nature et la structure cristalline des NPs ZnO en comparant le diffractogramme obtenu à celui de la base JCPDS pour l'oxyde de zinc de taille micronique (Figure 8).

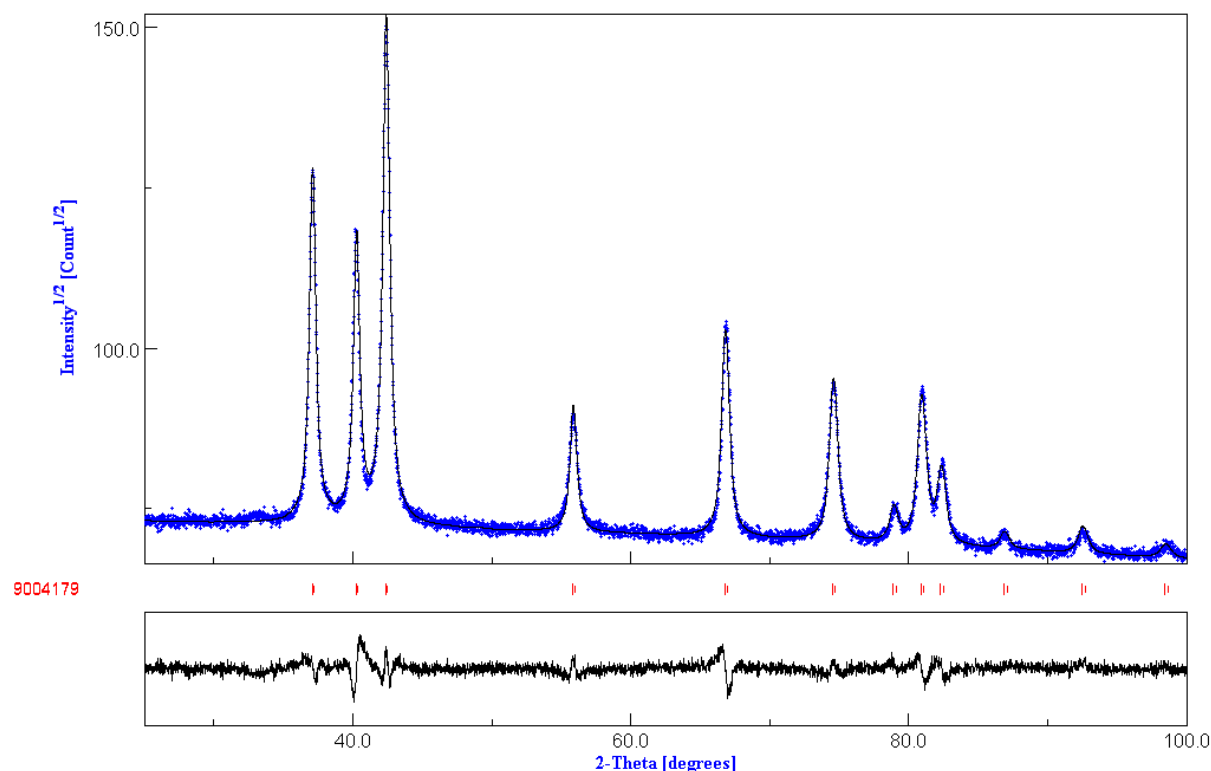


Figure 8 : Diffraction des Rayons X sur l'échantillon de nanoparticules ZnO (produit X1) (bleu). Référence ZnO microparticulaire de la base JCPDS (noir), (Sivry et al., 2014).

La correspondance démontre qu'il s'agit bien de particules d'oxydes de zinc. Par ailleurs, l'analyse DRX permet de faire une estimation de la taille utilisant la formule de Scherrer. Elle a été estimée à  $21 \text{ nm} \pm 3.3 \text{ nm}$ , ce qui correspond à l'ordre de grandeur annoncé par le fabricant (i.e. 20 nm). Ces NPs sont anisotropes, leur forme n'est pas parfaitement définie mais la population est homogène. La Spectroscopie de Photoélectron X permet de réaliser une analyse fine de surface de NPs, sur une profondeur maximale de 10 nm. Les pics observés sur les spectres obtenus (Figure 9) révèlent la composition de cette surface.

Nous avons ainsi pu remarquer en réalisant des zooms sur le spectre au niveau d'énergie du pic d'oxyde de zinc (à 531 eV) la présence d'un épaulement sur la gauche correspond au pic des hydroxydes de zinc ( $\text{Zn}(\text{OH})_2$ , à 533 eV, Figure 9). Il y a donc présence d'hydroxyde de zinc sur ces NPs neuves, ce qui est confirmé par le calcul du paramètre Auger qui correspond à la différence d'énergie entre l'électron de cœur arraché et l'énergie de l'électron Auger émis lors du remplacement de l'électron de cœur arraché (2009,9 eV, très proche de la valeur théorique de  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  : 2009,7 eV et de celle du ZnO : 2010,2 eV). Ces particules sont donc constituées d'un cœur de ZnO et d'un coquille de  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  en surface (Sivry et al., 2014).

Ainsi, en émettant l'hypothèse que cette couche est répartie de façon homogène et continue sur la surface, son épaisseur peut être estimée à 1,49 nm.



## LES NANOPARTICULES: QUELS RISQUES EN SEINE ?

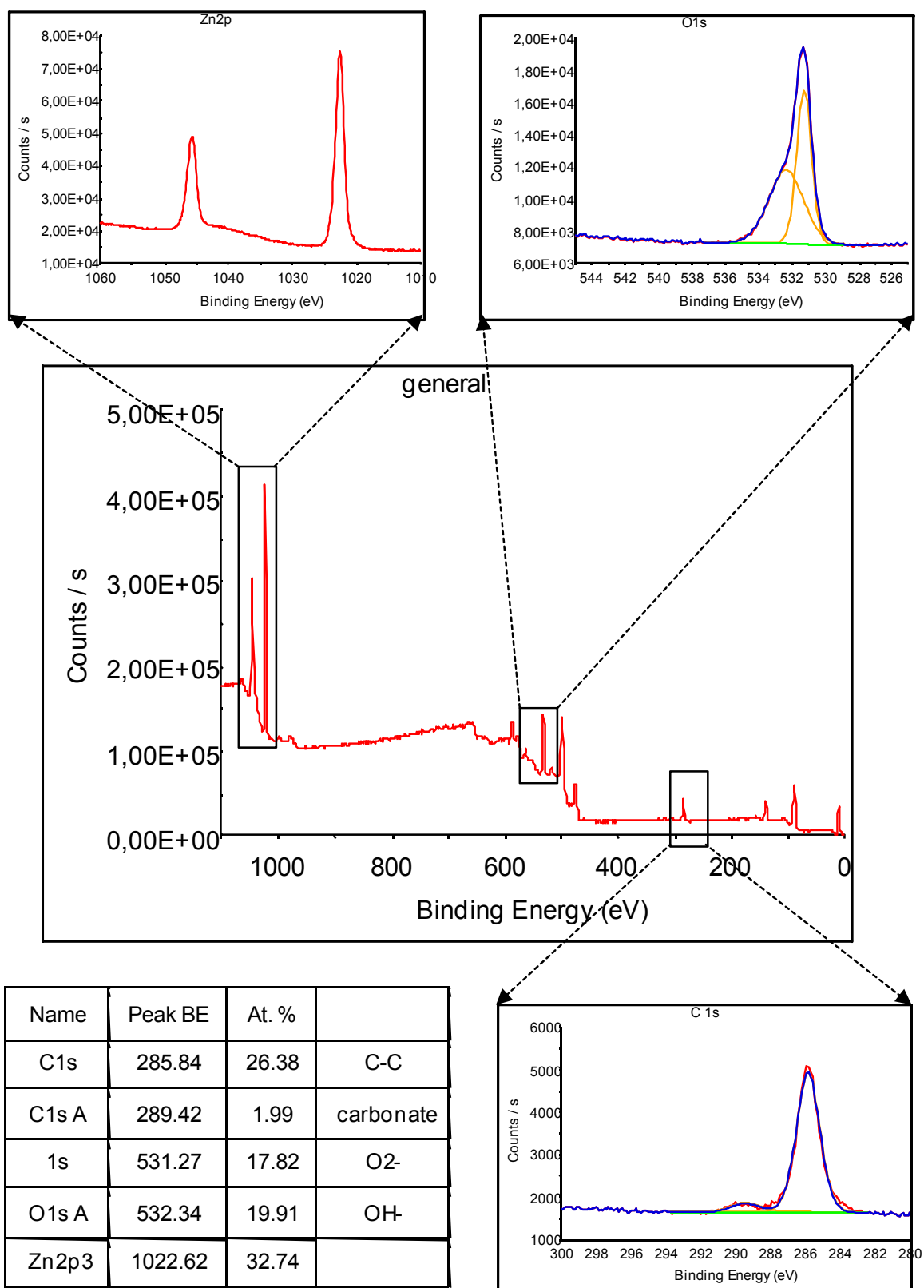
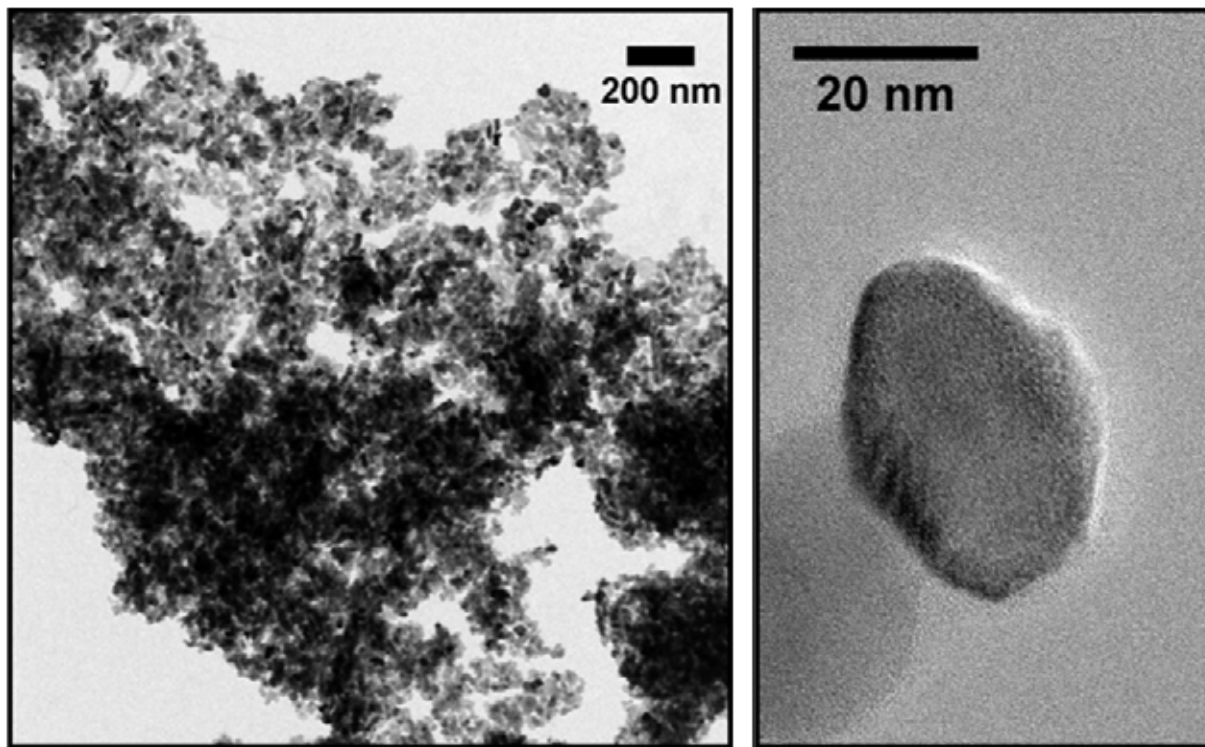


Figure 9 : Spectre XPS des NPs ZnO non enrobées (produit X1) et agrandissements sur les pics de Zn2p, de O1s et de C1s, (Sivry et al., 2014).

Les nanoparticules de ZnO (produit X1) ont une surface spécifique de  $37.5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , mesurée par BET. Elles apparaissent au MET comme des sphères de 20 à 50 nm de diamètre (Figure 10). Ces résultats sont donc en accord avec l'estimation de leur taille réalisée à partir des résultats de DRX.



*Figure 10 : Images MET de nanoparticules de ZnO neuves non enrobées (produit X1).*

La distribution en taille des NPs ZnO non enrobées en dispersion dans l'eau de Seine et mesurée par DLS révèle trois populations de tailles distinctes (20-50 nm ; 150-200 nm et 400-500 nm), ce qui correspond, pour le premier groupe, à la taille estimée par DRX et observée au MET. Ces résultats mettent aussi en évidence la tendance des NPs à former des agrégats.

### **3.2 Caractérisation des NPs TiO<sub>2</sub> non enrobées (produit X2)**

L'analyse DRX nous a permis de vérifier la nature du produit X2 qui s'est avéré être en effet du dioxyde de titane de structure rutile (Figure 11).

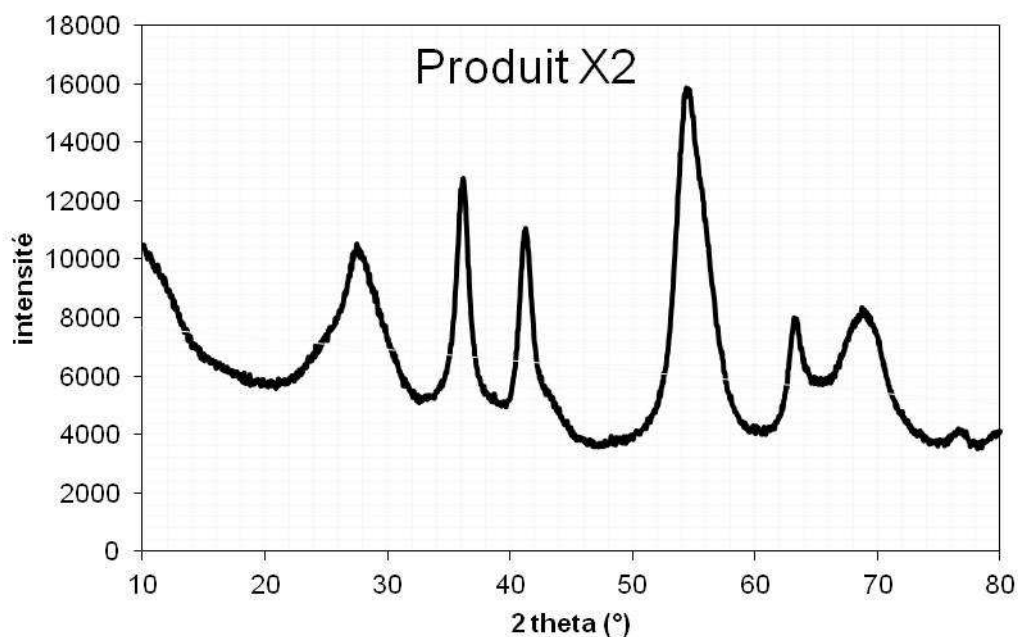


Figure 11 : Diffraction des Rayons X sur l'échantillon de nanoparticules de  $\text{TiO}_2$  (produit X2). Il correspond à la référence du  $\text{TiO}_2$  microparticulaire de type rutile de la base JCPDS.

Les nanoparticules de  $\text{TiO}_2$  (produit X2) ont une surface spécifique  $57.6 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  mesurée par BET. Elles apparaissent au MET et au MEB comme des grains anisotropes de forme sphéroïde de 50 nm de diamètre (Figure 12).

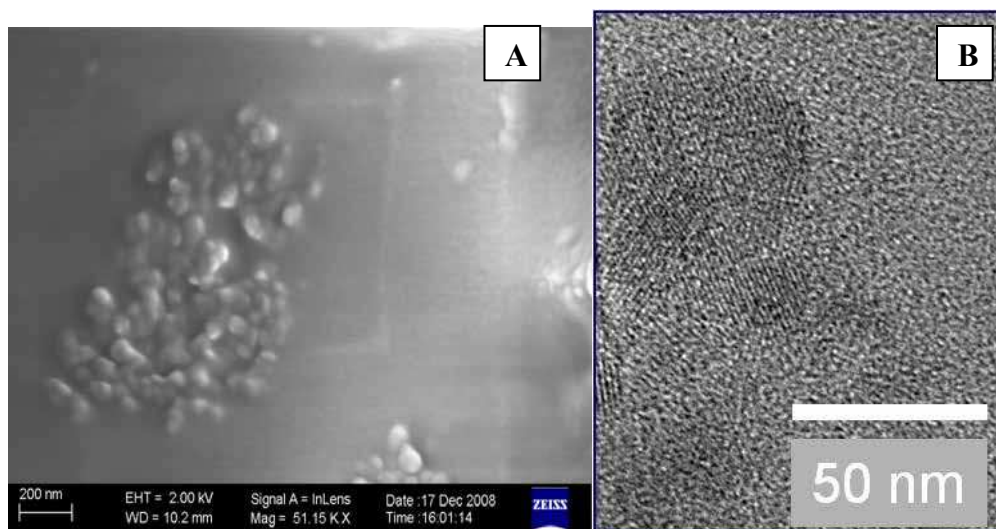


Figure 12 : Images MEB (A) et MET (B) des NPs  $\text{TiO}_2$  neuves non enrobées (produit X2).

La distribution en taille des NPs  $\text{TiO}_2$  non enrobées en dispersion dans l'eau de Seine et mesurée par DLS révèle différentes populations de tailles distinctes (50-80 nm ; 150-250 nm et 300-500 nm), ce qui correspond, pour le premier groupe, à la taille observée au MET. Ces résultats mettent aussi en évidence la tendance des NPs à former des agrégats.

### 3.3 Caractérisation des NPs ZnO enrobées (produit X3)

Un des objectifs de notre étude est de pouvoir observer l'impact de l'enrobage sur la dissolution des nanoparticules. Selon le test de Folch, le ratio chloroforme/méthanol permettant d'extraire l'ester en gardant le maximum d'enrobage et pour un temps de décantation raisonnable est 5 : 5. Ces nanoparticules ont donc été caractérisées par Diffraction des Rayons X, par Spectroscopie Photoélectronique X et par Microscopie Electronique à Transmission, afin de confirmer ou d'infirmer la présence d'enrobage à leur surface.

La comparaison du diffractogramme (Figure 13) des échantillons Folch (ratio chloroforme – méthanol : 5 – 5 et 0 – 10) avec le diffractogramme obtenu pour les NPs ZnO non enrobées neuves, indique que les NPs n'ont pas été modifiées par le traitement. Par ailleurs, l'estimation de leur taille moyenne selon la formule de Scherrer est de  $18 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$  pour le ratio chloroforme-méthanol : 0 - 10 et de  $17,5 \text{ nm} \pm 2.5 \text{ nm}$  pour le ratio chloroforme - méthanol : 5 - 5. Ces valeurs sont aux barres d'erreur près, cohérentes avec celle annoncée par le constructeur (20 nm de diamètre).

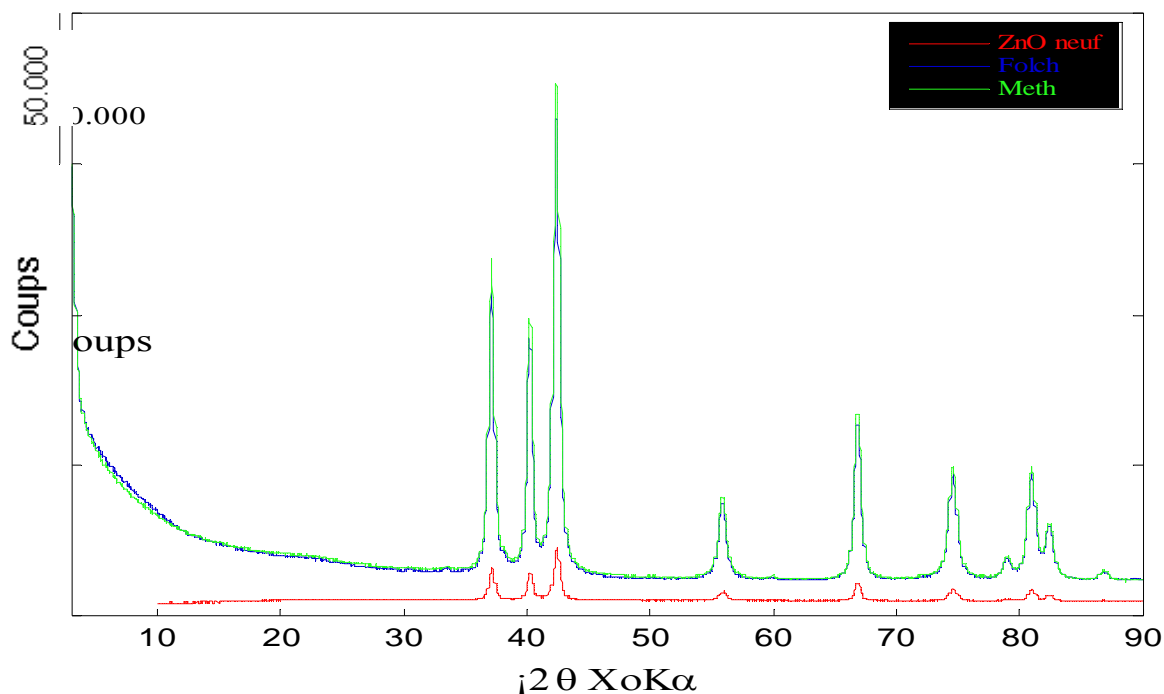


Figure 13 : Superposition des diffractogrammes des échantillons Folch (ratio chloroforme – méthanol : 5 – 5 et 0 – 10) et des NPs ZnO non enrobées neuves.

En Spectroscopie Photoélectronique X le spectre obtenu est très ressemblant à celui des NPs ZnO non enrobées neuves avec une légère différence au niveau de l'intensité des pics (Figure 14). Le paramètre Auger calculé est : 2010,2 eV ce qui correspond au paramètre Auger de l'oxyde de zinc pur. De plus, le rapport C-C/Zn calculé est de 1,4 et le rapport  $\text{OH}^-/\text{O}^{2-}$  est de 1,26. Ces rapports sont supérieurs à ceux trouvés dans le cas des NPs ZnO non enrobées neuves ( $\text{C-C/Zn} = 0,8$  et  $\text{OH}^-/\text{O}^{2-} = 1.1$ ) ce qui signifie qu'il y a une augmentation du % atomique des liaisons C-C, qui peut être associé à la présence d'un revêtement carboné autour des nanoparticules de ZnO. De la même façon, l'augmentation des  $\text{OH}^-$  signifie que la couche  $\text{Zn(OH)}_2$  autour de ces NPs est supérieure à celle présente autour des NPs ZnO non enrobées neuves. L'épaisseur de la couche de revêtement carboné et celle de la couche de  $\text{Zn(OH)}_2$  ont pu ainsi être estimées à 2 nm et 1.6 nm, respectivement.

## LES NANOPARTICULES: QUELS RISQUES EN SEINE ?

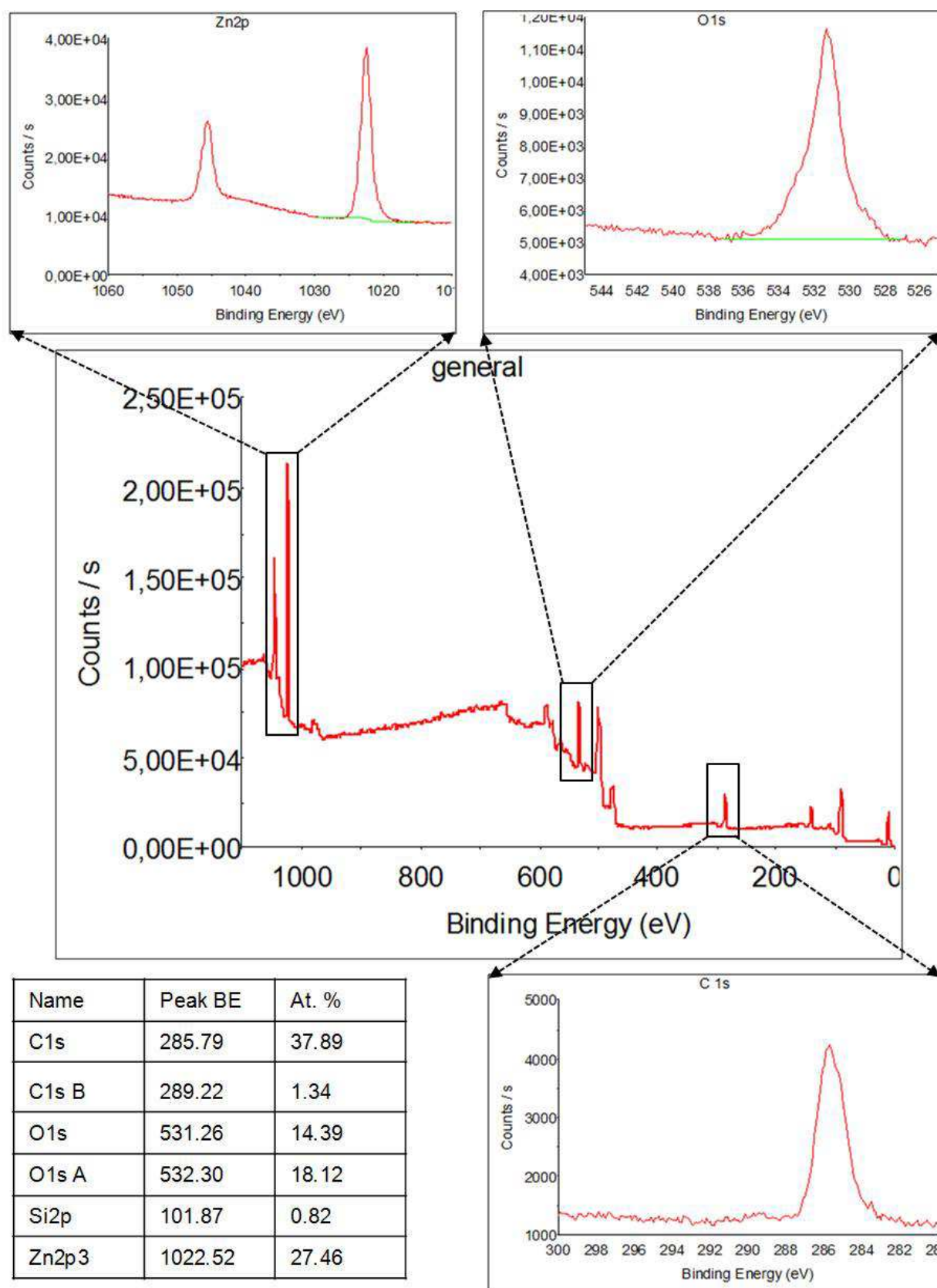
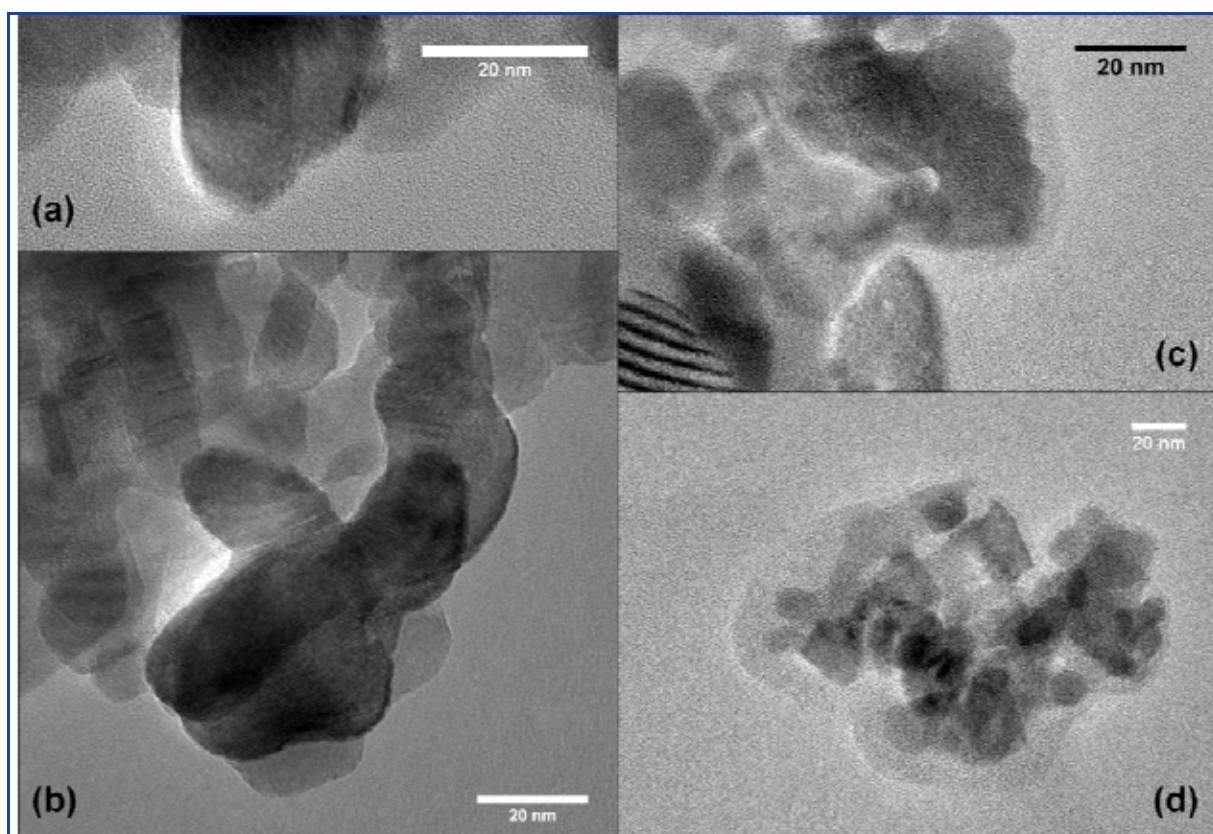


Figure 14 : Spectre XPS des NPs ZnO enrobées extraite par Folch avec le ratio chloroforme – méthanol : 5 – 5.



L'observation au Microscope Électronique à Transmission des différents culots montre dans le cas extrême (0 chloroforme-10 méthanol) des NPs totalement dépourvues d'enrobage, similaires aux NPs neuves en poudre, tandis qu'un ratio intermédiaire (5 chloroforme-5 méthanol) présente une majorité de NPs encore enrobées (Figure 15). La présence d'enrobage est aussi confirmée par la présence de silice dans les cartographies et compositions chimiques réalisées.



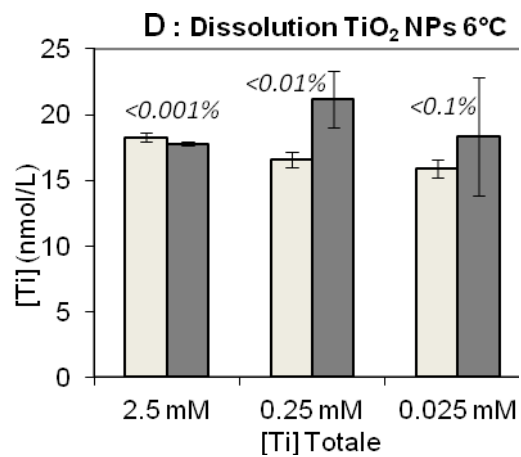
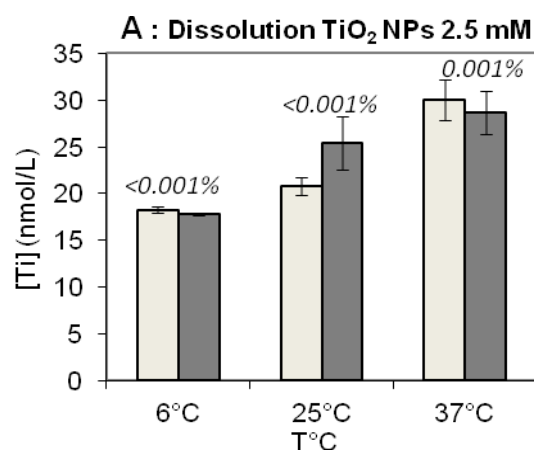
*Figure 15 : Images MET des NPs ZnO extraites lors du test de Folch avec le ratio chloroforme - méthanol 0 – 10 (a et b) et avec le ratio chloroforme - méthanol 5 - 5 (c et d).*

### 3.4 Solubilité des NPs de TiO<sub>2</sub>

Les taux de dissolution des nanoparticules de dioxyde de titane sans enrobage organique (produit X2) ont été déterminés en laissant interagir 0.025 mM, 0.25 mM et 2.5 mM de TiO<sub>2</sub> NPs dans de l'eau de Seine. Le rôle de la température a été évalué en plaçant les échantillons à 6°C, 25°C ou 37°C. Enfin, la proportion de Ti dissous a été mesurée dans les ultrafiltrats après 1 mois et 3 mois d'interaction. Les résultats obtenus sont récapitulés sur la Figure 16.



## LES NANOPARTICULES: QUELS RISQUES EN SEINE ?



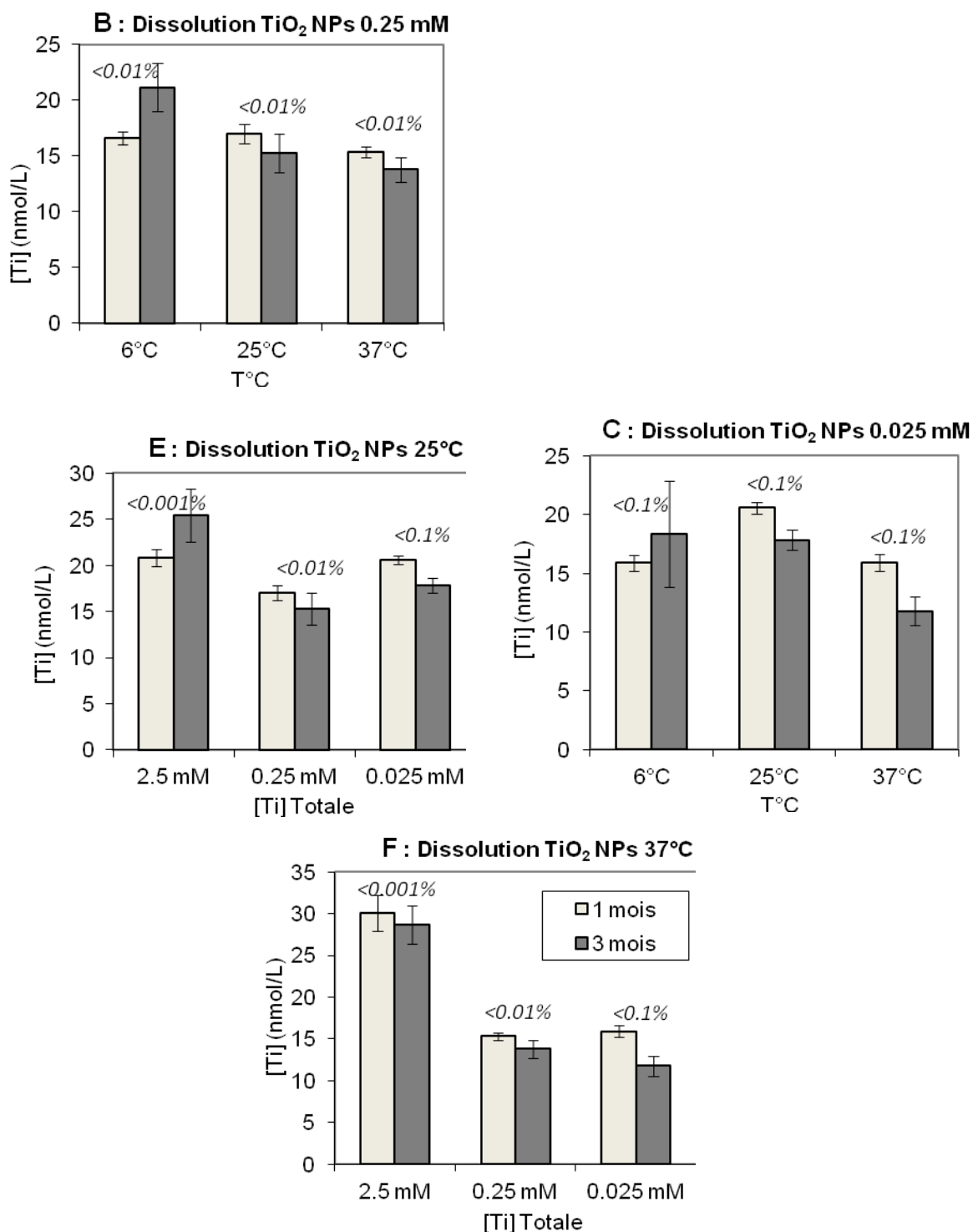


Figure 16 : Évolution de la proportion de Ti dissous dans les ultrafiltrats après 1 mois (gris clair) et 3 mois (gris foncé) d'interaction des NPs TiO<sub>2</sub> dans l'eau de Seine. A, B, C : pour 2.5 mM, 0.25 mM et 0.025 mM de TiO<sub>2</sub>, respectivement. D, E, F : à 6°C, 25°C et 37°C, respectivement.

D'une façon générale, on constate qu'une proportion très faible de NPs de  $\text{TiO}_2$  est dissoute dans l'eau de Seine, moins de 0.1% (resp. <0.01% et <0.001%) pour une concentration initiale totale en Ti de 0.025 mM (resp. 0.25 mM et 2.5 mM). Par ailleurs, cette proportion n'évolue pas significativement entre 1 mois et 3 mois d'interaction, quelle que soit la concentration initiale en NPs et quelle que soit la température. Un léger impact de la température sur le taux de dissolution est observé pour la plus forte concentration (2.5 mM de NPs  $\text{TiO}_2$ ), soit une augmentation de 18 nmol/L à 28 nmol/L en passant de 6°C à 37°C (**A**). Cette observation pourrait traduire le rôle de la température dans le déplacement de l'équilibre thermodynamique, néanmoins cet impact n'est plus observé pour des concentrations plus faibles (0.25 mM et 0.025 mM de NPs  $\text{TiO}_2$ , **B** et **C**, resp.). A 37°C, jusqu'à 2 fois plus de Ti (30 nmol/L) sont mesurés en solution à forte concentration ( $[\text{TiO}_2]_{\text{tot}} = 2.5 \text{ mM}$ ) qu'à faible concentration (**F**), ce qui signifie que la solubilité maximale de  $\text{TiO}_2$  n'est pas la même dans chaque cas. Une explication peut-être le rôle joué par l'état d'agrégation des NPs dans la solubilité de celles-ci, car la dispersion des NPs en solution diminue lorsque leur concentration augmente.

Néanmoins, les taux de dissolution des nanoparticules de  $\text{TiO}_2$  dans l'eau de Seine ne dépassant jamais 0.1% des NPs  $\text{TiO}_2$  totales, soit un maximum de 30 nmol/L, il peut être ici conclu que la forme nanoparticulaire du  $\text{TiO}_2$  n'est pas davantage soluble que ses homologues microparticulaire ou macroparticulaire, il n'y a donc pas "d'effet nano" sur la solubilité de  $\text{TiO}_2$  dans l'eau de Seine.

### 3.5 Solubilité des NPs de ZnO

Les taux de dissolution des nanoparticules de ZnO sans enrobage organique (produit X1) ont été déterminés en laissant interagir 2.5 mM de ZnO NPs dans l'eau de Seine. L'ultrafiltration a été réalisée à des pas de temps variables (1h, 3h, 6h, 8.5h, 16h, 1j, 2j, 3j, 1s, 2s, 1mois, 2 mois, 3 mois) et les DMT ont été arrêtée après 72h d'interaction.

Les concentrations en zinc dissous mesurées dans chacun des ultrafiltrats sont représentées sur la figure 17, en fonction du temps d'interaction des nanoparticules avec l'eau de Seine. On constate qu'un maximum de 20  $\mu\text{M}$  de zinc dissous (<1%) est mesuré au tout début de l'expérience, dès la première heure d'interaction, tandis que cette valeur décroît ensuite pendant toute l'expérience, jusqu'à atteindre 4  $\mu\text{M}$  après 3 mois d'interaction (Sivry *et al.*, 2014, figure 17).

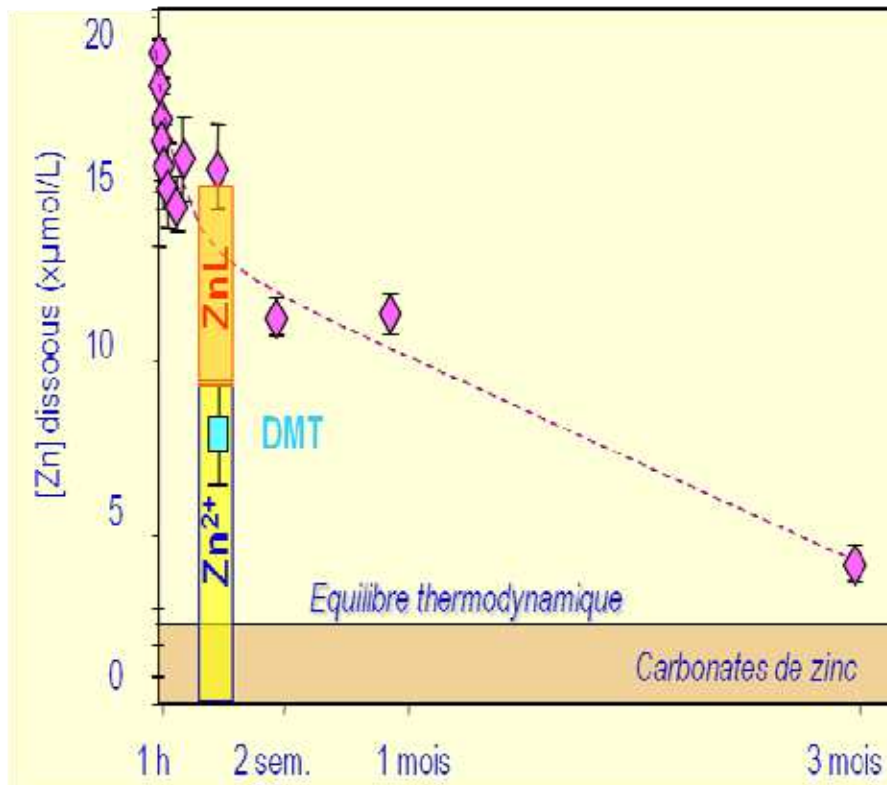


Figure 17 : Concentration en zinc dissous dans les ultrafiltrats (losanges), après différents temps d'interaction NPs ZnO/eau de Seine. La concentration en  $Zn^{2+}$  mesurée par DMT (cercle) est cohérente avec le calcul de spéciation réalisé sous Visual Minteq, cf Sivry et al., (2014).

La Technique de la Membrane à effet Donnan (DMT) réalisée en parallèle donne une concentration en zinc ionique ( $Zn^{2+}$ ) de  $7 \pm 2 \mu\text{M}$  après 72h d'interaction. Cette valeur correspond à celle calculée par un calcul de spéciation du zinc réalisé sous Visual Minteq avec les paramètres du système pris à 72h d'interaction (Figure 17). La cohérence de ces résultats permet de valider l'utilisation de l'ultrafiltration à 1000 Da comme technique de séparation ZnO NPs/zinc dissous.

Un aliquot d'échantillon a été centrifugé après 1 semaine d'interaction, afin d'en extraire la phase solide. Son observation au Microscope Électronique en Transmission (Figure 18a) montre la présence simultanée de NPs ZnO "native", d'un diamètre moyen de 20 nm, ainsi que de NPs d'un diamètre jusqu'à 10 fois plus faible (2-5 nm).

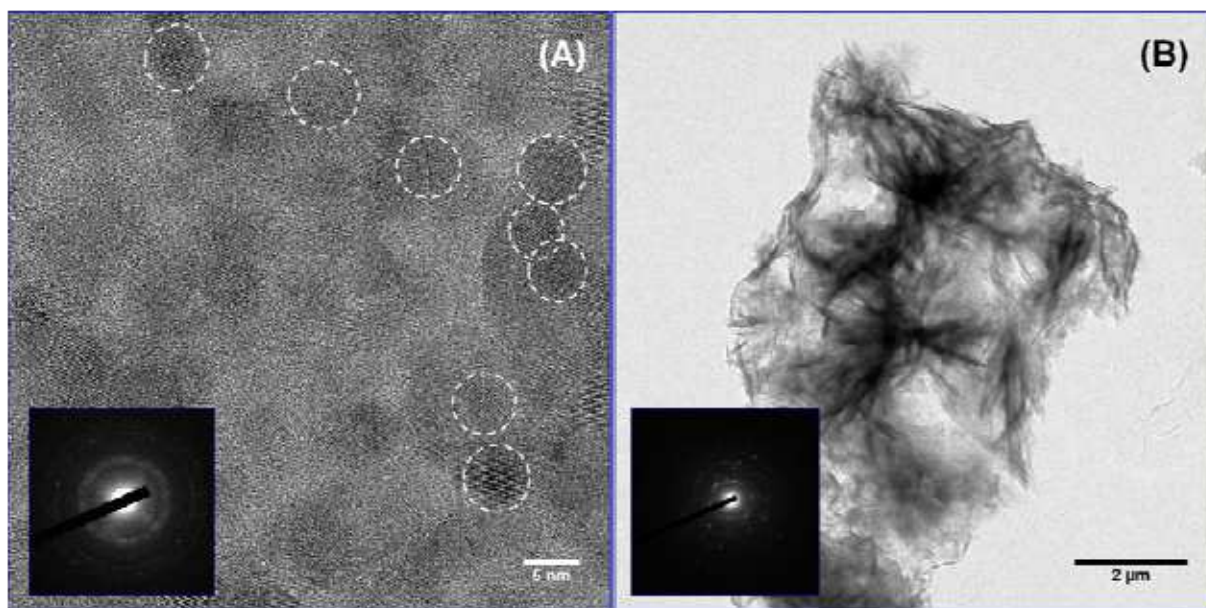


Figure 18 : Images MET et Diffraction X des NPs ZnO ayant interagit avec l'eau de Seine pendant 1 semaine (A) et 3 mois (B), cf Sivry et al., (2014).

L'analyse en diffraction des rayons X réalisée sur la zone contenant ces NPs de taille inférieure donne un diffractogramme identique à celui des NPs ZnO initiales (Figure 18a). De même, une diffraction numérique réalisée sur une de ces "petites" NPs confirme qu'il s'agit toujours de NPs d'oxydes de zinc de structure wurtzite, qui sont donc issues de la dissolution partielle, après 1 semaine, des NPs initiales.

La chute rapide des concentrations en zinc dissous observée dans le cas des eaux naturelles peut s'expliquer par la précipitation de phases solides secondaires. Les différentes phases solides obtenues après vieillissement des NPs ont donc été caractérisées pour infirmer ou confirmer la précipitation de phases solides secondaires.

### 3.5.1 Néoformation de phases carbonatées en système fermé

Lorsque les systèmes eaux de surface/NPs évoluent dans le temps, une augmentation du volume et de la masse de la phase solide (initialement constituée à 100% de NPs) est observée. Après 3 mois d'interaction, cette phase solide a été séparée par centrifugation puis lyophilisée. L'observation au MET de cette phase révèle une structure totalement différente de celle des NPs initiales (Figure 18b).

La caractérisation de ces phases secondaires par Diffraction des Rayons X (DRX) révèle la présence de carbonates de zinc, principalement de l'hydrozincite ( $\text{Zn}_5(\text{OH})_6(\text{CO}_3)_2$ ) mais aussi de la smithsonite ( $\text{ZnCO}_3$ ) (Figure 19) qui correspondent aux structures en feuillet observées en microscopie électronique (Figure 18b). Ces phases se sont donc formées par précipitation du zinc ionique issu de la dissolution des oxydes de zinc nanoparticulaires. Cependant, les diffractogrammes révèlent aussi que des NPs ZnO sont toujours présentes dans cette phase solide, mais invisibles en microscopie électronique car masquées, ou piégées par les phases carbonatées. Les raies correspondant à la zincite sont plus écrasées et élargies que celles de la base JCPDS, ce qui traduit une détérioration de sa cristallinité.

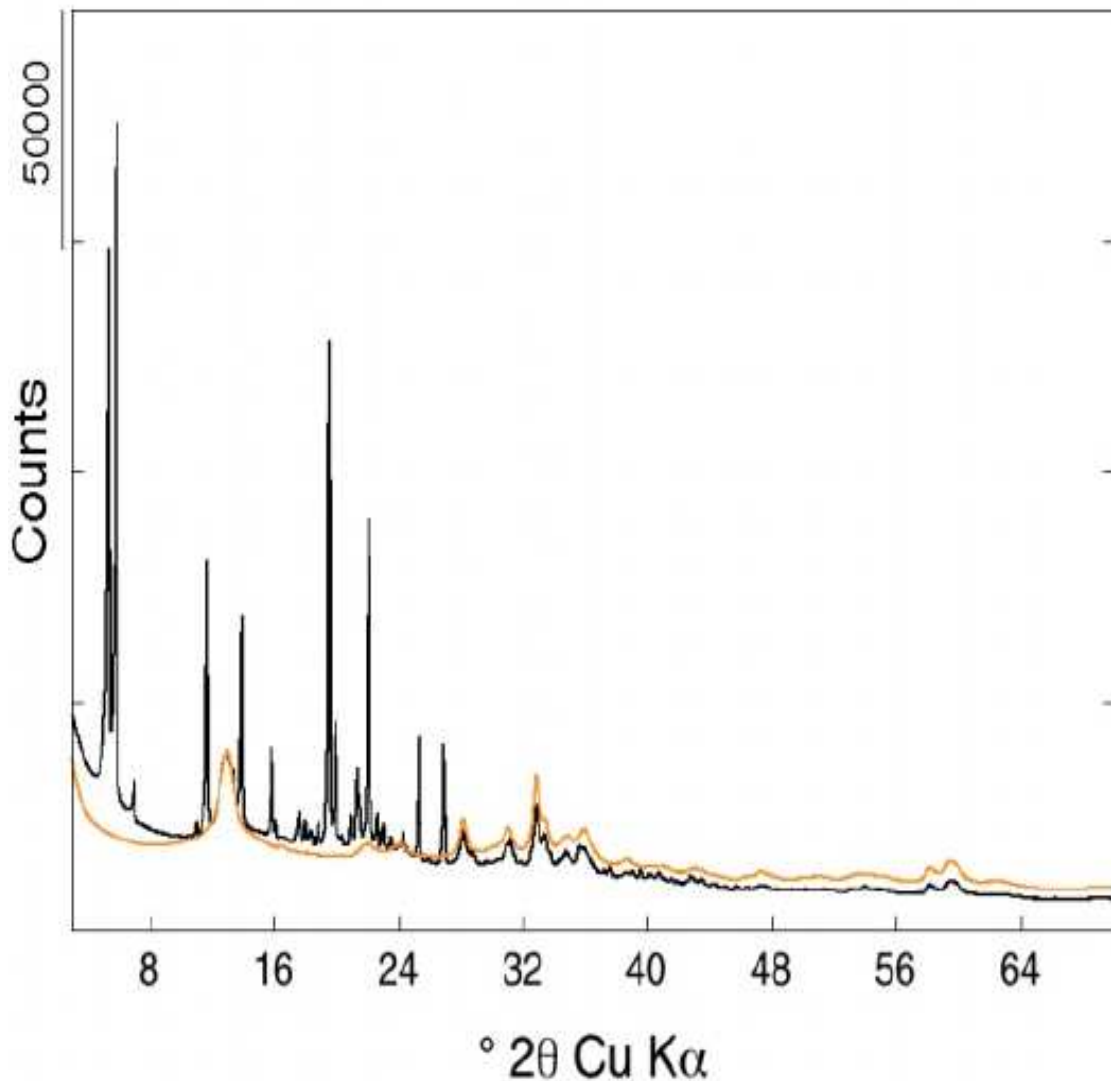


Figure 19 : Diffraction en Rayons X (DRX) de la phase solide récupérée après 3 mois d'interaction des NPs ZnO dans l'eau de Seine (courbe noire) en comparaison du diffractogramme de l'hydrozincite issu de la base de données JCPDS (orange), cf Sivry et al., (2014).

La détection de zincite dans la phase solide résiduelle, même après 3 mois d'interaction, signifie qu'une proportion non négligeable de nanoparticules ZnO n'est pas dissoute.

Cette inclusion des nanoparticules dans les phases secondaires carbonatées peut signifier leur isolement par rapport au milieu et donc l'arrêt des réactions impliquant les NPs, soit une forme de passivation des nanoparticules. Ce type de système fermé est comparable dans le milieu naturel avec l'eau interstitielle présente dans les sédiments ou dans les sols. L'hypothèse peut être avancée que dans un milieu ouvert tel que la colonne d'eau d'une rivière, la précipitation des carbonates de zinc ne serait pas aussi systématique, conduisant potentiellement à la dissolution totale des NPs ZnO.

### 3.6 Rôle de la couche d'hydroxydes

Il a été détecté précédemment, par analyse XPS, que les NPs ZnO neuves sont recouvertes d'une couche d'hydroxyde de zinc de 1,49 nm d'épaisseur (Figure 20).



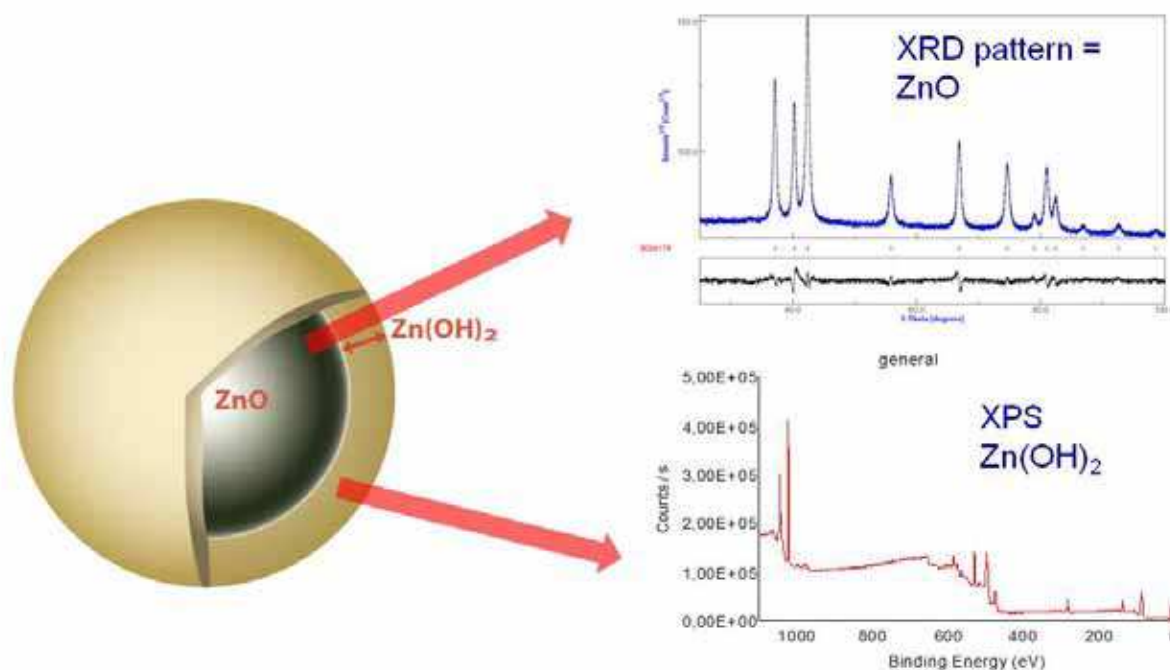


Figure 20 : Représentation conceptuelle de la couche d'hydroxyde de zinc détectée par XPS en surface des NPs ZnO.

Nous supposons donc qu'avant la dissolution de la zincite il pourrait y avoir la dissolution de l'hydroxyde de zinc selon l'équation (3) ce qui pourrait alors expliquer que les concentrations mesurées soient beaucoup plus élevées que celles modélisées.

La valeur de  $\log K_s$  correspondant à la concentration mesurée à l'équilibre a été déterminée, par itération, égale à 11.53. Selon la base de données de Visual Minteq, ce  $\log K_s$  correspond parfaitement à celui de l'hydroxyde de zinc phase Epsilon. Sur cette base, trois hypothèses peuvent être émises quant à l'explication des résultats expérimentaux obtenus : (i) soit les NPs sont composées de zincite enrobée d'hydroxyde de zinc, la dissolution observée correspond donc à celle de la couche d'hydroxyde de zinc et d'une partie de la zincite ; (ii) soit les résultats obtenus correspondent seulement à la dissolution de la couche d'hydroxyde de zinc qui serait donc de phase epsilon ; (iii) soit les résultats correspondent à la dissolution de la zincite seule et le  $\log K_s$  observé (11.53) serait supérieur à celui de la zincite classique (11.23) à cause d'un éventuel « effet nano ». En effet, plus une particule est petite plus sa surface spécifique est grande, donc plus son  $K_s$  et donc sa solubilité sont élevés Schindler, (1967).

### 3.7 Impact de l'enrobage organique des NPs ZnO sur leur solubilité

Comme décrit en introduction, les nanoparticules industrielles telles que les oxydes de zinc et dioxydes de titane, sont fréquemment commercialisées et utilisées (formulations cosmétiques par exemple) en présence d'un enrobage organique, ou surfactant, ayant pour objectif de maintenir les NPs dispersées dans le produit fini.

Des expériences de solubilité ont donc été réalisées dans l'eau de Seine, avec des nanoparticules industrielles d'oxyde de zinc enrobées d'un surfactant organique (produit X3). Comme pour les expériences de solubilité des NPs non enrobées réalisées précédemment, les taux de dissolution des nanoparticules ont été déterminés en laissant interagir 2.5 mM de ZnO NPs dans l'eau de Seine. L'ultrafiltration a été réalisée à des pas de temps variables (1h, 3h, 6h, 8.5h, 16h, 1j, 2j, 3j, 1s, 2s, 1mois, 2 mois, 3 mois) et les DMT ont été arrêtée après 72h d'interaction.

Les concentrations en zinc dissous mesurées dans chacun des ultrafiltrats sont représentées sur la figure 21, en fonction du temps d'interaction des nanoparticules avec l'eau de Seine et comparées avec les résultats obtenus précédemment dans ce même milieu avec les NPs sans enrobage organique.

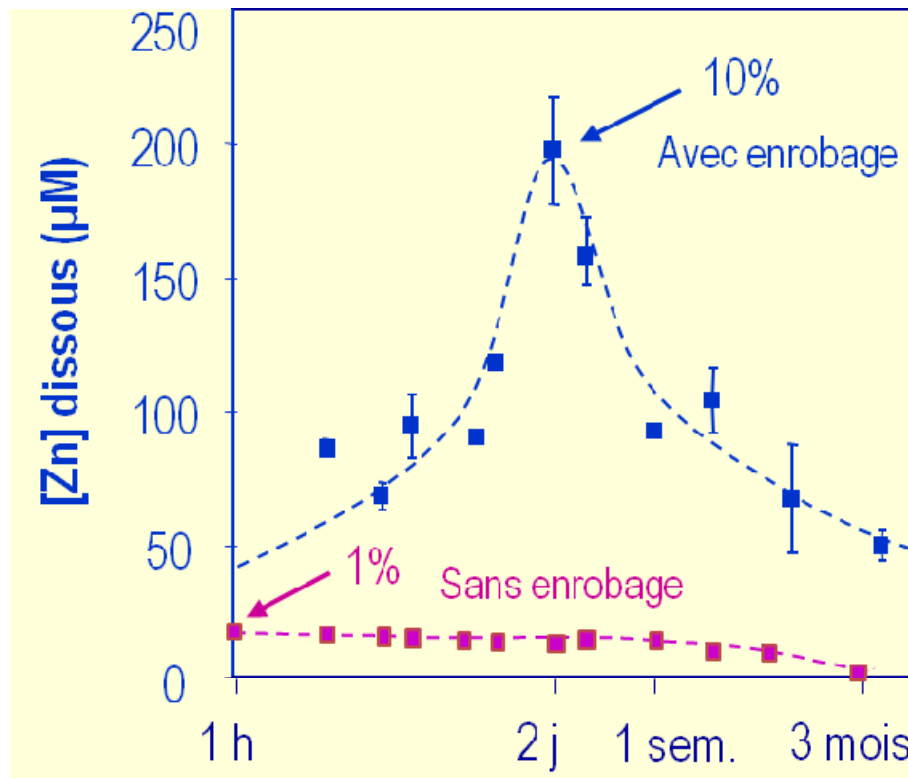


Figure 21 : Concentrations en zinc dissous mesurées dans les ultrafiltrats en fonction du temps d'interaction NPs ZnO/eau de Seine. Carrés noirs : cas des NPs ZnO avec enrobage organique. Carrés blancs : cas des NPs ZnO sans enrobage organique. L'axe des abscisses est en échelle logarithmique, adapté d'après Sivry et al., (2014).

On constate que dès la première heure d'interaction, davantage de Zn dissous est mesuré dans l'eau de Seine lorsque les NPs ZnO sont enrobées que lorsqu'elles ne le sont pas (48 µM contre 20 µM, respectivement). Alors que les teneurs en Zn dissous diminuent immédiatement pour les NPs ZnO sans enrobage, ces teneurs augmentent progressivement pendant 48h pour les NPs enrobées. Un maximum de 200 µM de zinc dissous (environ 10% des NPs ZnO totales) est même mesuré après 48h d'expérience, alors que le maximum de 1% du total est atteint dès la première heure dans le cas des NPs ZnO sans enrobage. Il y a donc jusqu'à 10 fois plus de zinc dissous dans l'eau de Seine lorsque les NPs sont enrobées que lorsqu'elles ne le sont pas (Sivry *et al.*, 2014). Sur le long terme (>48h), les valeurs mesurées décroissent ensuite pendant toute l'expérience, jusqu'à atteindre 50 µM après 3 mois d'interaction (Figure 21).

Il semble donc que l'enrobage organique ait des effets sur la solubilité des NPs ZnO. En effet, la solubilité de ces NPs est à la fois plus rapide et plus importante. Cette augmentation des concentrations en solution pourrait correspondre à la dégradation de cet enrobage organique qui permettrait la mise en contact de la partie minérale des NPs avec la solution. Ceci expliquerait l'augmentation progressive de la concentration en Zn dissous observée, puisque la dissolution du "cœur" ZnO serait dépendante de la vitesse de dégradation de la "coquille" organique. Selon Franklin et al. (2007), la formation d'agrégats (groupes de particules

primaires) entraîne une augmentation de la taille hydrodynamique et une réduction de la surface spécifique qui peut entraîner une réduction de la dissolution : le volume des agrégats et l'enveloppement des NPs par des complexes organiques exposent ceux-ci à une dissolution plus lente.

Le plateau observé entre 1 semaine et 1 mois pourrait correspondre à une stabilisation du zinc en solution par la complexation de l'ion zinc avec des ligands organiques résultants de la dégradation de l'enrobage et permettant de les conserver en phase dissoute (comme c'est communément réalisé avec l'EDTA par exemple). Or, les expériences de DMT démontrent qu'environ 75% du zinc dissous est du zinc complexé avec des ligands organiques provenant de l'enrobage. Cependant, une modélisation thermodynamique avec le logiciel Visual Minteq est ici impossible car les éventuels ligands organiques issus de la dégradation de l'enrobage sont inconnus.

Les diminutions de concentrations en Zn dissous observées après 1 mois d'interaction peuvent correspondre à une dégradation des ligands organiques impliqués dans la complexation ou alors à une saturation des sites de complexation entraînant une sursaturation de la solution et une précipitation de phases solides secondaires comme précédemment. La précipitation d'une phase très peu soluble ( $K_s$  ou produit de solubilité très élevés) pourrait aussi provoquer la libération des ions complexés par les ligands organiques mentionnés précédemment par effet de compétition sans que leur dégradation ne soit nécessaire.

## 4. Conclusion

Les nanoparticules étudiées ici sont produites en grande quantité et déjà largement utilisées dans différents domaines industriels (cellules photovoltaïques, cosmétologie...). Il s'agit de NPs d'oxydes de zinc (ZnO) et de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>), avec et sans enrobage organique. Leur caractérisation par DRX a permis de contrôler la nature et la composition cristallographique des particules (ZnO et TiO<sub>2</sub> rutile), mais aussi de faire une estimation de la taille des particules d'oxydes de zinc (21 nm ± 3.3 nm). Ces NPs sont anisotropes, de forme pseudo-sphérique. Par ailleurs, l'analyse XPS a mis en évidence l'existence d'un cœur de ZnO et d'un coquille de Zn(OH)<sub>2</sub> en surface, d'une épaisseur estimée à 1,49 nm (Gélabert *et al.*, 2014; Sivry *et al.*, 2014). Les nanoparticules ont une surface spécifique de 37.5 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> (ZnO, produit X1) et 57.6 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> (TiO<sub>2</sub>, produit X2), mesurées par la méthode BET-N<sub>2</sub>. Elles apparaissent au MET comme des sphères de 20 à 50 nm de diamètre. La distribution en taille des NPs non enrobées en dispersion dans un électrolyte et mesurée par DLS révèle trois populations de tailles distinctes pour les NPs ZnO (20-50 nm ; 150-200 nm et 400-500 nm) de même que pour les NPs TiO<sub>2</sub> (50-80 nm ; 150-250 nm et 300-500 nm). Parallèlement, les nanoparticules enrobées étant fournies dans un solvant apolaire (ester), une phase préalable d'extraction par solvant des nanoparticules a permis par la suite leur caractérisation. Leur observation en Microscopie Électronique à Transmission révèle la persistance de l'enrobage organique sur ces NPs ZnO, tandis que l'analyse XPS a permis d'estimer à 2 nm et 1.6 nm l'épaisseur de la couche de revêtement carboné et celle de la couche de Zn(OH)<sub>2</sub>, respectivement.

Les expériences de mesures de solubilité des nanoparticules manufacturées en milieu naturel ont permis, dans un premier temps, de démontrer que l'utilisation combinée des techniques de la Membrane à effet Donnan (DMT) et de l'ultrafiltration (UF), associée à des calculs de spéciation en solution, permettent de décrire rigoureusement ce système. En particulier, la cohérence de ces résultats permet de valider l'utilisation de l'ultrafiltration à 1000 Da comme technique de séparation NPs/métal dissous dans l'eau de Seine.

Les taux de dissolution des nanoparticules dans l'eau de Seine ont été mesurés inférieurs à 0.1% des NPs totales pour TiO<sub>2</sub>, soit un maximum de 30 nmol/L. Il peut être ici conclu que la forme nanoparticulaire du TiO<sub>2</sub> n'est pas davantage soluble que ses homologues microparticulaire ou macroparticulaire, il n'y a donc pas "d'effet nano" sur la solubilité de TiO<sub>2</sub> dans l'eau de Seine.

Pour les nanoparticules d'oxydes de zinc, ces résultats démontrent qu'une fraction non négligeable est rapidement dissoute dans l'eau de Seine. La chute rapide des concentrations en zinc dissous mesuré dans l'échantillon d'eau de Seine s'explique par la précipitation de phases solides secondaires, carbonatées, comme le montrent les caractérisations microphysiques réalisées sur les phases obtenues après vieillissement des NPs, ainsi que les calculs thermodynamiques. Cette inclusion des nanoparticules dans les phases secondaires carbonatées peut signifier leur isolement par rapport au milieu et donc l'arrêt des réactions impliquant les NPs, soit une forme de passivation des nanoparticules. Ce type de système fermé est comparable dans le milieu naturel avec l'eau interstitielle présente dans les sédiments ou dans les sols. L'hypothèse peut être avancée que dans un milieu ouvert tel que la colonne d'eau d'une rivière, la précipitation des carbonates de zinc ne serait pas aussi systématique, conduisant potentiellement à la dissolution totale des NPs ZnO.

D'une façon générale, il a été mis en évidence que le comportement des NPs dans le milieu est en grande partie contrôlé par la couche, ou "coquille", ou "gangue", directement à leur surface (Gélabert *et al.*, 2014; Sivry *et al.*, 2014). Il peut s'agir soit d'une couche initialement présente comme c'est le cas avec la couche d'hydroxydes de zinc détectée par XPS et qui contrôle le Ks apparent ; soit d'une couche d'enrobage organique, qui va augmenter la vitesse et le taux de dissolution des NPs. Enfin, la formation d'une gangue carbonatée lors de l'interaction des NPs avec le milieu, peut elle aussi contrôler le devenir des NPs en les emprisonnant et en les masquant du milieu extérieur, provoquant potentiellement leur passivation.

## Bibliographie

- Allard, T., Menguy, N., Salomon, J., Calligaro, T., Weber, T., Calas, G. & Benedetti, M.F. (2004) Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil). *Geochim. Cosmochim. Acta*, **68**, 3079-3094.
- Aryal, B.P., Neupane, K.R., Sandros, M.G. and Benson, D.E. (2006) Metallothioneins initiate semiconducting nanoparticle cellular toxicity. *Small*, **2**, 1159-1163.
- Auffan, M., Rose, J., Wiesner, M.R. & Bottero, J.Y. (2009) Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. *Environ. Pollut.*, **157**, 1127-1133.
- Boxall, A.B., Tiede, K. & Chaudhry, Q. (2007) Engineered nanomaterials in soils and water: How do they behave and could they pose a risk to human health? *Nanomedicine*, **2**, 919-927.
- Brunner, T.J., Wick, P., Manser, P., Spohn, P., Grass, R.N., Limbach, L.K., Bruinink, A. and Stark, W.J. (2006) In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 4374-4381.
- Cances, B., Ponthieu, M., Castrec-Rouelle, M., Aubry, E. & Benedetti, M.F. (2003) Metal ions speciation in a soil and its solution: experimental data and model results. *Geoderma*, **113**, 341-355.
- Chanteau, B., Fresnais, J. and Berret, J.-F. (2009) Electrosteric enhanced stability of functional sub-10 nm cerium and iron oxide particles in cell culture medium. *Langmuir*, **25**, 9064-9070.

- Chen, J.W., Xiu, Z.M., Lowry, G.V. & Alvarez, P.J.J. (2011) Effect of natural organic matter on toxicity and reactivity of nano-scale zero-valent iron. *Water Res.*, **45**, 1995-2001.
- Dupré, B., Viers, J., Dandurand, J.L., Polve, M., Benezeth, P., Vervier, P. & Braun, J.J. (1999) Major and trace elements associated with colloids in organic-rich river waters : ultrafiltration of natural and spiked solutions. *Chemical Geology*, **160**, 63-80.
- Fitch, A. & Helmke, P.A. (1989) Donnan equilibrium/graphite furnace atomic absorption estimates of soil extract complexation capacities. *Analytical Chemistry*, **61**, 1295-1298.
- Folch, J., Lees, M. & Stanley, G.H.S. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, **226**, 497-509.
- Fresnais, J., Berret, J.-F., Qi, L., Chapel, J.-P., Castaing, J.-C., Sandre, O., Frka-Petresis, B., Perzynski, R., Oberdisse, J. and Cousin, F. (2008) Universal scattering behavior of co-assembled nanoparticle-polymer clusters. *Physical Review E*, **78**.
- Gélabert, A., Sivry, Y., Ferrari, R., Akrouit, A., Cordier, L., Nowak, S., Menguy, N. & Benedetti, M.F. (2014) Uncoated and Coated ZnO Nanoparticles Life Cycle in Synthetic Seawater. *Environ. Toxicol. Chem.*, **In press**.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W. & Nowack, B. (2009) Modeled Environmental Concentrations of Engineered Nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for Different Regions. *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 9216-9222.
- Gu, H., Ho, P.L., Tsang, K.W., Wang, L., Xu, B. (2003a) *J Am Chem Soc*, **24**, 15702-15703.
- Gu, H., Ho, P.L., Tsang, K.W., Yu, C.W., Xu, B. (2003b) *Chem Commun (Camb)*, **7**, 1966-1967.
- Jouvin, D., Louvat, P., Juillot, F., Marechal, C.N. & Benedetti, M.F. (2009) Zinc Isotopic Fractionation: Why Organic Matters. *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 5747-5754.
- Lowry, G.V. & Casman, E.A. (2009) Nanomaterial Transport, Transformation, and Fate in the Environment. A Risk-Based Perspective on Research Needs. In Linkov, I., Steevens, J. (eds) *Nanomaterials: Risks and Benefits*. Springer, Dordrecht, pp. 125-137.
- Mueller, N.C., Buha, J., Wang, J., Ulrich, A. & Nowack, B. (2013) Modeling the flows of engineered nanomaterials during waste handling. *Environmental Science: Processes & Impacts*, **15**, 251-259.
- Mueller, N.C. & Nowack, B. (2008) Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 4447-4453.
- Oberdorster, G., Oberdorster, E. & Oberdorster, J. (2005) Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, **113**, 823-839.
- Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S. & Nowack, B. (2012) Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *J. Nanopart. Res.*, **14**, 1-11.
- Planchon, M., Ferrari, R., Guyot, F., Gelabert, A., Menguy, N., Chaneac, C., Thill, A., Benedetti, M.F. & Spalla, O. (2013) Interaction between *Escherichia coli* and TiO<sub>2</sub> nanoparticles in natural and artificial waters. *Colloid Surf. B-Biointerfaces*, **102**, 158-164.
- Schindler, P.W. (1967) Heterogeneous Equilibria Involving Oxides, Hydroxydes, Carbonates, and Hydroxide Carbonates. *Equilibrium concepts in Natural Water Systems*. American Chemical Society, Washington DC, pp. 196.
- Sivry, Y., Gelabert, A., Cordier, L., Ferrari, R., Lazar, H., Juillot, F., Menguy, N. & Benedetti, M.F. (2014) Behavior and fate of industrial zinc oxide nanoparticles in a carbonate-rich river water. *Chemosphere*, **95**, 519-526.
- Sivry, Y., Gelabert, A., Siron, V., Ferrari, R., Juillot, F. & Benedetti, M.F. (2009) Fate of manufactured mineral nanoparticles in freshwater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **73**, A1232-A1232.

- Temminghoff, E.J.M., Plette, A.C.C., Van Eck, R. & Van Riemsdijk, W.H. (2000) Determination of the chemical speciation of trace metals in aqueous systems by the Wageningen Donnan Membrane Technique. *Analytica Chimica Acta*, **417**, 149-157.
- Thill, A., Zeyons, O., Spalla, O., Chauvat, F., Rose, J., Auffan, M. & Flank, A.M. (2006) Cytotoxicity of CeO<sub>2</sub> nanoparticles for Escherichia coli. Physico-chemical insight of the cytotoxicity mechanism. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 6151-6156.
- U.N.E.P. (2007) Chapter 7: Emerging challenges-nanotechnology and the environment. *GEO Year Book 2007*. United Nations Environment Programme Division of Early Warning and Assessment, Nairobi, pp. 61-70.
- Waychunas, G.A. & Zhang, H.Z. (2008) Structure, Chemistry, and Properties of Mineral Nanoparticles. *Elements*, **4**, 381-387.
- Xia, T., Kovochich, M., Liong, M., Madler, L., Gilbert, B., Shi, H., Yeh, J.I., Zink, J.I., Nel, A.E. (2008) Comparison of the Mechanisme of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties. *ACS NANO*, **2**, 2121-2134.

11-JSE-2011-Sivry-Manuscrit-HAL-2013-11-19.doc